

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Pós-Graduação em Química

**SÍNTESE DE SULFONIL-HIDRAZONAS A PARTIR DE
IMIDAS CÍCLICAS: AVALIAÇÃO DE SUAS CAPACIDADES
INIBITÓRIAS FRENTE A ÓXIDO NÍTRICO SINTASE, A
MIELOPEROXIDASE E PROTEÇÃO CONTRA A
LIPOPEROXIDAÇÃO**

CRISTIANO MORA

Florianópolis
Santa Catarina - Brasil
Junho de 2003

**“SÍNTESE DE SULFONIL-HIDRAZONAS A PARTIR DE IMIDAS
CÍCLICAS: AVALIAÇÃO DE SUAS CAPACIDADES INIBITÓRIAS
FRENTE A ÓXIDO NÍTRICO SINTASE, A MIELOPEROXIDASE E
PROTEÇÃO LIPÍDICA CONTRA A LIPOPEROXIDAÇÃO”**

CRISTIANO MORA

Esta é a dissertação que compreende os trabalhos de pesquisa executados durante o curso de mestrado em química com especialização em química orgânica do departamento de química da Universidade Federal de Santa Catarina.

**Prof. Dr. Farouk José Nome Aguilera
Coordenador da Pós-graduação**

**Florianópolis
Santa Catarina-Brasil
Junho de 2003**

**“SÍNTESE DE SULFONIL-HIDRAZONAS A PARTIR DE IMIDAS
CÍCLICAS: AVALIAÇÃO DE SUAS CAPACIDADES INIBITÓRIAS
FRENTE A ÓXIDO NÍTRICO SINTASE, A MIELOPEROXIDASE E
PROTEÇÃO LIPÍDICA CONTRA A LIPOPEROXIDAÇÃO”**

CRISTIANO MORA

**Dissertação julgada e aprovada em sua forma
final pelo Orientador e Membros da Banca
Examinadora, composta pelos Professores
Doutores:**

Ricardo José Nunes (Departamento de Química-CFM-UFSC)

César Zucco (Departamento de Química-CFM-UFSC)

Tânia Creczynski-Pasa (Departamento de Ciências Farmacêuticas-CCF-UFSC)

Miguel Soriano Balparda Caro (Departamento de Química-CFM-UFSC)

Como tenho repudiado qualquer autoridade que queira me impor algo, mesmo sendo a felicidade que busco, assim também reconheço o direito dos outros de buscarem a felicidade a seu próprio modo.

Johann Friedrich Theodor Müller, o nosso Fritz Müller

[Trecho da carta destinada ao seu irmão Hermann em 30 de março de 1851]

...disse Bohr, de uma sabedoria muito antiga segundo a qual – na procura da harmonia da vida – jamais deveremos esquecer que, no drama da existência, somos ao mesmo tempo atores e espectadores.

AGRADECIMENTOS

Os sentimentos de agradecimentos são decentes e me comovem, por isso, muitas vezes é difícil expressá-los, pois eles criam teias entre o universo público (res extensa) e o interior (res cogitans). E, neste momento, tento resumir ambos!...

A minha maior gratidão é pela minha família que incessantemente esteve comigo – doando sem restrições muito do que foi conquistado com muito trabalho. Doaram amor puro. É minha maior herança.

A minha mãe, Ilma, *bela come en fior*, pelos incentivos, enfatizados através da sua força, liberdade e amor. Ao meu pai, Antonio, que espiritualmente vive no meu coração. Aos meus irmãos José Neilor e Jairo Antonio, pelo afeto, confiança e liberdade. As cunhadas Enilce Elita e Vanusa pelo carinho. Aos sobrinhos Antonio Vitor, Amanda Giovana, Alessandra Carla, Andressa Paula e Ana Gabriele, pela constante renovação manifestada através do brilho do seus olhares: *Belle òcchie spogliato di tutto, meno da dolcezza*. As tias Vincit e Edith que me acompanham nessa vida desde pequeno.

Ao professor Dr. Ricardo José Nunes por dar a conhecer facetas diferentes do campo da química, pela paciência e disposição, pelas palavras e silêncios.

Aos professores Dr. Antonio Carlos Joussef e Dr. Marcus Mandolesi Sá pelos conselhos valiosos doados com a habilidade de grandes educadores.

A professora Dra. Tânia Creczynski-Pasa e suas alunas, Ilana, Carla e Clarissa do Departamento de Ciências Farmacêuticas, que desde o início abraçaram este trabalho com respeito e sabedoria. Sou grato por toda a ajuda que recebi de todos vocês.

Aos professores Dr. Miguel Soriano Balparda Caro e Dr. Adaílton João Bertoluzzi da Central de Análises pela paciência, carinho e competência no trabalho.

Ao professor Dr. César Zucco e sua disposição para alertar: com clareza, precisão e humor.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de mestrado.

Aos colegas e aos amigos dos laboratórios, o Marcelo Luiz Quint, o Evilásio da Silva Andrade, o Emerson Meyer, o Gustavo, o Luciano, a Kely Navakosky de Oliveira, a Karoline Mundstock que me ajudaram a mudar algumas óticas nas abordagens sobre a vida.

Agradeço especialmente ao Marcelo, pela identidade psicocientífica presente na nossa amizade e ao Evilásio por me orientar quando iniciei na pesquisa, e pela sua preciosa disposição.

Ao meu novo amigo Amarildo Otávio Martins, pela transfusão de energia diária, pelo companheirismo e pela sua arte.

Ao grande amigo Tales Renato Dallmann pelos sete anos (...) juntos pela e para a aventura. Amigo para toda a vida. Muita saúde, Tales.

Ao Thiago Rausch. “Um puro sangue.”

Ao Luiz Carlos Shwars e seu bom humor.

A Lia Carmen Puff por derramar sobre mim um pouco de sua sabedoria e sua arte; sentimentos e palavras e por renovar em mim a sede pela leitura.

Ao Fábio da Silva Miranda pela ajuda com os cálculos computacionais e por ter-me apresentado o Gaussian. É um bom companheiro.

Ao Davi por me acompanhar e conduzir durante as cinéticas, e ao Professor Farouk José Nome Aguilera por permitir a utilização dos laboratórios.

...ao amor da Giana.

Ao Cristo. “O R.E.D.E.N.T.O.R.”

A moira.

Ao BRASIL. A Nação. A Pátria. O povo. O território. A plataforma continental.

BRASIL SEMPRE

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ESQUEMAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
1 A INTRODUÇÃO	1
1.1 ATUAÇÕES FARMACOLÓGICAS DE IMIDAS CÍCLICAS.....	3
1.1.1 A N- α -ftalimidoglutarimida (Talidomida). Uma breve sinopse histórica biológica.....	3
1.1.2 Ftalimidas com atividade na produção e regulação do Fator de Necrose Tumoral- α (do inglês: Tumoral Necrosis Factor- α , TNF- α) ³	5
1.1.3 Inibidores específicos de Aminopeptidase sensível à puromicina com esqueleto homoftalimídico ⁴	6
1.1.4 Ftalimidas e isoindolinonas com atividade antipsicóticas ⁵	9
1.1.5 Imidas cíclicas com atividade analgésica	10
1.1.6 N-fenilftalimidas com atividade anticonvulsivante	12
1.1.7 Imidas cíclicas com atividade alostérica.....	13
1.1.8 Imidas cíclicas com atividade antitumoral.....	14
1.2 ATUAÇÕES FARMACOLÓGICAS DESULFONIL-HIDRAZONAS.....	15
1.2.1 Sulfonil-hidrazonas com atividade analgésica.....	15
1.2.2 Sulfonil-hidrazonas com atividade anti-neoplásica	16
1.2.3 Sulfonil-hidrazonas com atividade antimicrobiana ²⁰	17
1.3. ASPECTOS QUÍMICO-SINTÉTICOS DAS IMIDAS CÍCLICAS E SULFONIL-HIDRAZONAS.....	18
1.3.1 Imidas cíclicas	18
1.3.2 Sulfonil-hidrazonas	19
1.4 OS ASPECTOS ESTÉREOQUÍMICOS DAS HIDRAZONAS.....	21
1.5 OS ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE ESPÉCIES REATIVAS DE NITROGÊNIO E OXIGÊNIO	23
1.5.1 Os óxidos de Nitrogênio.....	23
1.5.2 O peroxinitrito (ONOO ⁻)	24
1.5.3 O ácido Hipocloroso (HOCl)	25
2 OS OBJETIVOS.....	27
3 OS RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
3.1 SÍNTESES	28
3.1.1 Síntese dos ciclos imídicos.....	28
3.1.2 A síntese dos cloretos de sulfonila.....	30
3.1.3 A síntese das sulfonil-hidrazidas, SH.....	33
3.1.4 A síntese das sulfonil-hidrazonas, SHd.....	35
3.2 A RESOLUÇÃO ESTRUTURAL.....	39
3.3 A CINÉTICA DE HIDRÓLISE DOS CICLOS IMÍDICOS E DAS IMIDO SULFONIL-HIDRAZONAS	46
4 OS RESULTADOS BIOLÓGICOS	49
4.1 A VIABILIDADE CELULAR.....	49
4.2 A INIBIÇÃO DAS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS: DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) E DA MIELOPEROXIDASE E DA PROTEÇÃO CONTRA A LIPOPEROXIDAÇÃO.....	51
5 AS CONCLUSÕES	54

6. A SECÇÃO EXPERIMENTAL	55
6.1 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E REAGENTES	55
6.2 A SÍNTESE DOS CICLOS IMÍDICOS (CI)	59
6.2.1 A Síntese dos homólogos succinimídicos: 1-aril e alquilaril-pirrolidina-2,5-diona	59
6.2.2 A Síntese dos homólogos ftalimídicos: 2-aril e alquilaril-1H-isoindol-1,3(2H)-diona	59
6.2.3 A Síntese dos homólogos naftalimídicos: 2-fenil, benzil e feniletil-6-X-1H-benzo[de]isoquinolina-1,3(2H)-diona	60
6.3 A SÍNTESE DOS CLORETOS DE CICLO IMÍDO-ARIL-SULFONILA (CIARSO ₂ CL)	61
6.3.1 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo succinimídico: cloreto de 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il), metil e etil]-benzil-sulfonila	61
6.3.2 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo ftalimídico: cloretos de 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il), metil e etil]-benzil-sulfonila	61
6.3.3 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo naftalimídico: cloretos de 4-[(6-X-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il), metil e etil]-Benzil-sulfonila	62
6.4 A SÍNTESE DAS CICLO IMIDO-ARIL-SULFONIL-HIDRAZIDA (CIARSH)	62
6.4.1 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos succinimídicos: 4-[(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida	62
6.4.2 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos ftalimídicos: 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida	63
6.4.3 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos naftalimídicos: 4-[(6-X-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida	63
6.5 A SÍNTESE DOS CICLO IMIDO-ARIL-SULFONIL-HIDRAZONAS CIARSHD)	63
6.5.1 A Síntese das sulfonil-hidrazonas	63
6.5.1.1 As propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (110).	64
6.5.1.2 As Propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-(4-hidroxifenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (111).	65
6.5.1.3 As Propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-(4-nitro-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (112).	65
6.5.1.4 As propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (113).	66
6.5.1.5 As Propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-(4-metoxi-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (114).	67
6.5.1.6 As Propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-(3',4'-dioximetileno-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (115).	67
6.5.1.7 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (116).	68
6.5.1.8 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(4-metoxi-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (117).	69
6.5.1.9 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(3',4'-dioximetileno-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (118).	70
6.5.1.10 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(2-hidroxifênil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (119).	70
6.5.1.11 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (120).	71
6.5.1.12 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil]-N'-[(1E)-4-metoxi-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (121).	72
6.5.1.13 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il) metil]N'-[(1E)-4-N,N'-di-metil-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (122).	73
6.5.1.14 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil] N'-[(1E)-3',4'-dioximetileno-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (123).	74
6.5.1.15 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil] N'-[(1E)-4-nitro-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (124).	75
6.5.1.17 As Propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (126).	76
6.5.1.18 As Propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)-metil]-N'-[(1E)-4-hidroxifênilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (127).	77
6.5.1.19 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-4-metoxifênilmetileno] benzosulfonil-hidrazida, (128).	78
6.5.1.20 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-3-metoxifênilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (129).	78

6.5.1.21 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-3-metoxi-4-hidroxi-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (130).	79
6.5.1.22 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)il)metil]-N'-[(1E)-4-nitro-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (131).	80
6.5.1.23 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)yl)methyl]-N'-[(1E)-(3'-[[bis(piridin-2''-il-metil)amino]metil]-2'-hidroxi, 5'-metil)metileno]benzosulfonil-hidrazida, (132).	81
6.5.1.23 As propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-yl)methyl]-N-pyridin-2-ylbenzenesulfonamide (99).	81
7 OS PROCEDIMENTOS EMPREGADOS PARA A AVALIAÇÃO BIOLÓGICA CON TIDA NESTA PESQUISA	83
7.1 A AVALIAÇÃO DA LIPOPEROXIDAÇÃO.....	83
7.2 A ATIVIDADE DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE.....	83
7.3 A ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE.....	84
8 AS CONDIÇÕES DAS CINÉTICAS DE HIDRÓLIS E	84
9 AS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
10 OS ANEXOS	90

RESUMO

Varias espécies radicalares, como o óxido nítrico, mantêm o funcionamento do corpo humano, protegendo-o e envolvendo-o em processos de sinalização intracelular. Mas em situações mutagênicas ocorre a superprodução desses radicais, acarretando danos às células, aos tecidos e às biomoléculas.

Elaborou-se a síntese de sulfonil-hidrazonas a partir de imidas cíclicas, gerando as estruturas inéditas em sua maioria – as imidas cíclicas sulfonil-hidrazônicas (**ICSH**) –, para avaliá-las na capacidade de inibir a óxido nítrico sintase, responsável por gerar o óxido nítrico e a mieloperoxidase, que por sua vez, gera o ácido hipocloroso.

Foi possível avaliar que, sobre essas enzimas, os compostos tiveram capacidades inibitórias moderadas, não significando que esses valores sejam desprezíveis, uma vez que, essas enzimas estão amplamente distribuídas na vastidão corpórea, e uma pequena redução de sua operabilidade efetiva poderá ser a resposta para os sintomas problemáticos de várias doenças como a artrite reumatóide. Também foi moderada a capacidade de proteger lipossomas frente aos radicais ascorbila.

Verificou-se que ocorre hidrólise em duas posições das moléculas – sobre o anel imídico e sobre a sulfonil-hidrazona. As hidrólises ocorrem tanto em pH 1 quanto em pH 7; e aparentemente com velocidades diferentes. Estas reações levantam a dúvida de qual seria a espécie promotora do efeito inibitório: as **ICSH**, seus ácidos âmicos, e ou suas sulfonil-hidrazidas.

A configuração da ligação aldoinímica é *E* pela análise cristalográfica mas o isômero *Z* também é formado quando empregou-se benzaldeídos *m* substituídos.

ABSTRACT

Some radical species maintain the human body working, protected and involving they in intra-celular signaling process. But in mutagenic situations, occur a super-production of this radical species carrying injury in cells, tissue and biomolecules.

Was elaborated the synthesis of sulphonylhydrazones from cyclic imides for evaluate yours capacity in inhibit this enzymes that are responsible for the production of this radicals: The Nitric Oxid Sintase, that produce the nitrosus oxid and the Mieloperoxidase, that produce the hipochlorous acid. About this enzymes, the compounds had moderates inhibitory activities. Also was moderate the capacity for protect lipossomes under ascorbil radical production.

That molecules undergo hydrolysis in the cyclic imide as well as in the sulphonylhydrazone moiety in pH 1 and pH 7. The rate of hydrolysis of cyclic imides and for the sulphonylhydrazones are apparently different. This reactions can reflect in the potency of yours biological activities.

The configuration of the aldo-imidic bond is *E*, through cristalografic analysis, but the isomer *Z* also is formed when benzaldehyde employed in the synthesis are *m* substituted.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Visão em perspectiva da NFFSH4OMe, com átomos não-hidrogenóides, representados por elipsóides de 50% de probabilidade.	41
Figura 2	Visão em perspectiva da NBzNSH4NO ₂ , com átomos não-hidrogenóides, representados por elipsóides de 50% de probabilidade.	41
Figura 3	Distâncias em Å para os trechos selecionados.	42
Figura 4	Ligações de hidrogênio (linha tracejada) entre a NBzNSH4NO ₂ e um DMSO de cristalização.	42
Figura 5	Duas conformações para a NBzNSH4NO ₂ .	45
Figura 6	Ciclos imídicos avaliados em experimento cinético em pH 1 e pH 7.	46
Figura 7	Sulfonií-hidrazonas avaliadas em experimento cinético em pH 1 e pH7.	47
Figura 8	Sulfonií-hidrazonas avaliadas na viabilidade celular de hepatócitos de ratos.	50

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema I	Tautomerização dos compostos ativos.	9
Esquema II	Mecanismo de alquilação <i>in vivo</i> de sulfonil-hidrazonas.	17
Esquema III	Síntese de 3-anilino-4-arilmalimidas.	18
Esquema IV	Síntese de N-fenilftalimida.	19
Esquema V	Mecanismo de oxidação alifática. Banford -Stevens.	20
Esquema VI	Mecanismo de oxidação alifática. Shapiro.	20
Esquema VII	Reações de adição sobre sulfonil-hidrazonas.	21
Esquema VIII	Ciclos imídicos sintetizados.	28
Esquema IX	Síntese dos cloretos de sulfonila.	30
Esquema X	Síntese das sulfonil-hidrazidas.	34
Esquema XI	Formação da ftalazina.	35
Esquema XII	Síntese das sulfonil-hidrazonas.	36
Esquema XIII	Numeração utilizada nas análises espectroscópicas.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição <i>E-Z</i> de DNP em solução de clorofórmio.	21
Tabela 2	Propriedades dos ciclos imídicos.	28
Tabela 3	Pontos de fusão dos cloretos de sulfonila.	39
Tabela 4	Pontos de fusão das SH.	32
Tabela 5	Sulfonil-hidrazonas (SHd) e propriedades espectroscópicas.	37
Tabela 6	Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) de fragmentos moleculares selecionados da NFFSH4OMe e NBzNSH4NO ₂ .	39
Tabela 7	Geometria das pontes de hidrogênio (Å, °) para a NFFSH4OMe.	40
Tabela 8	Geometria das pontes de hidrogênio (Å, °) para a NBzNSH4NO ₂ .	40
Tabela 9	Deslocamento dos hidrogênios numa mistura de diastereoisômeros.	44
Tabela 10	Calores de formação de quatro SHd	45
Tabela 11	Ciclos imídicos e constantes cinéticas de hidrólise.	46
Tabela 12	SHd e constantes cinéticas de hidrólise.	48
Tabela 13	Percentual de viabilidade celular (PVC), erro padrão (EP) das sulfonil-hidrazonas.	49
Tabela 14	Porcentagem de inibição enzimática e citoproteção.	51
Tabela 15	Dados cristalino e refinamentos estruturais da NBzNSH4NO ₂ .	57
Tabela 16	Dados cristalinos e refinamentos estruturais da NFFSH4OMe.	58

1 INTRODUÇÃO

Cada época é permeada por uma série de acontecimentos: históricos, sociais, científicos e culturais. Do mesmo modo, as pesquisas também manifestam-se temporalmente e coadunam com esses componentes da sociedade. Cada época imprime uma visão sobre o modo de como avaliar determinados objetos de estudo.

No campo da química uma única molécula demonstrou ser vista através de uma diversidade de opiniões e pesquisas. As potencialidades e efeitos destas substâncias foram vistas de maneira diferente no decorrer do tempo. É o caso da talidomida, molécula constituída de dois ciclos imídicos, que já foi valorizada como medicamento num momento, desvalorizada em outro e “redescoberta” no final dos 1900.

Através de contínuas pesquisas pode-se verificar que a constituição molecular desse fármaco promove ação benéfica em vários estudos farmacológicos distintos – possuindo por isso, o mérito de ser uma molécula inspiradora –, demonstrando os diferentes percursos que uma única molécula pode percorrer, e promover interações biológicas, inclusive em “santuários farmacológicos” como o cérebro.

Os pesquisadores num processo contínuo de estudos, encontram sempre novos elementos que até aquele momento não haviam sido observados. É o caso das espécies reativas de nitrogênio e oxigênio que atuam no meio biológico. Para algumas dessas espécies foram sugeridas alguns mecanismos de suas atuações biológicas, como a de neurotransmissores fundamentais e como autênticas armas de defesa biológica. No entanto, hoje sabe-se que sua superprodução promove doenças por degradar biomoléculas ou por destruir células inteiras.

O estudo destas moléculas ilustram um fenômeno essencial em nossas vidas: a existência do equilíbrio das funções biológicas. Este equilíbrio vital clama pelas descobertas científicas – para que mostrem os mecanismos – onde inúmeras moléculas, desencadeiam e regulam a produção de outras moléculas; suas inter e intra-relações.

Esta dissertação de mestrado em química orgânica tem o propósito de demonstrar as novas atuações farmacológicas de imidas cíclicas funcionalizadas com o fragmento sulfonil-hidrazônico.

Desta forma buscamos contribuir com as explorações realizadas por vários grupos de pesquisa do mundo, estudando o vasto e contínuo espectro de ação que a imidas cíclicas possuem.

No Capítulo 1 exponho dados históricos recentes das ações biológicas promovidas pelas imidas cíclicas e pelas sulfonil-hidrazonas. Nele pretendo ilustrar a importância da modificação e da criação de novos fragmentos unidos ao cicloimídico. Também reuno alguns procedimentos para a síntese de imidas cíclicas e observo as reações clássicas de sulfonil-hidrazonas que possuem seu lugar entre os reagentes indispensáveis e convenientes na síntese orgânica. Continuo este capítulo descrevendo e comentando os aspectos bioquímicos das espécies radicalares, suas gerações e atuações em seres humanos.

No Capítulo 2 apresento os objetivos desta dissertação.

Posteriormente, no Capítulo 3, exponho os resultados químicos desta pesquisa. A partir das discussões sobre as sínteses das moléculas, dos materiais de partida evoluo às moléculas-alvo (**ICSH**). Discuto a isomeria da ligação aldoimínica através de análises cristalográficas e de ressonância magnética nuclear. Por fim, demonstro que tanto as imidas cíclicas quanto as sulfonil-hidrazonas sofrem hidrólise em pH 1 e pH 7, porém sem o aprofundamento experimental neste cenário.

No Capítulo seguinte estão reunidas as discussões sobre os testes biológicos.

No Capítulo 5 estão as conclusões obtidas nesta pesquisa.

Os métodos das sínteses e os dados espectroscópicos das moléculas formam o Capítulo 6.

No Capítulo 7 aparecem reunidos os protocolos empregados na avaliação das propriedades inibitórias enzimáticas e na lipoperoxidação.

No capítulo 8 constam as referências bibliográficas que suportam este trabalho.

No capítulo 9 estão as condições dos experimentos cinéticos.

No último Capítulo estão agrupados os espectros citados no decorrer da leitura desta dissertação.

1.1 ATUAÇÕES FARMACOLÓGICAS DE IMIDAS CÍCLICAS

As imidas cíclicas estão presentes em estruturas de fármacos, pró-fármacos e bio-sondas. Podem ser consideradas como grupo farmacofórico – grupo que contém elementos moleculares essenciais para produzir atividade biológica – importante devido à facilidade de suas sínteses e ao grande espectro de ação biológica. Esta breve revisão demonstrará as bases das ações biológicas em trabalhos farmacológicos recentes e as modificações estruturais mais proeminentes.

1.1.1 A N-a-ftalimidoglutarimida (Talidomida). Uma breve sinopse histórica e biológica.

A molécula talidomida foi sintetizada em 1953 pela companhia farmacêutica suíça CIBA. No entanto, as pesquisas desta companhia não prosseguiram, pois considerava-se que a talidomida não produzia efeitos farmacológicos¹. Embora não fossem reconhecidos os efeitos desta molécula, a companhia alemã Chemie Grünenthal empreendeu o desenvolvimento de pesquisas, descobriu e comercializou esse fármaco como anticonvulsivante para o tratamento da epilepsia. Apesar de ser usada no tratamento desta enfermidade, a talidomida não se revelou efetiva para este propósito. No decorrer do tempo e através de novas pesquisas, descobriu-se que ela causava pronto adormecimento (sono), sem indispor o usuário após o efeito terapêutico. O reconhecimento deste efeito produziu um novo fármaco (1956), cuja aplicação era sedativo-hipnótico.

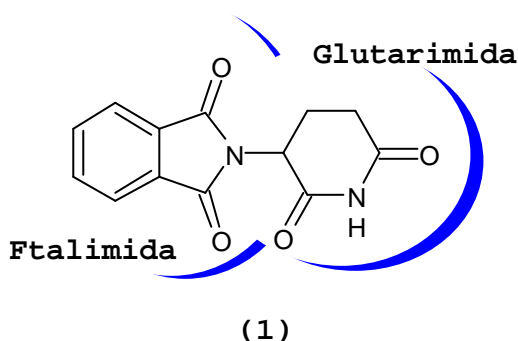
A talidomida tornou-se a pílula mais popular no tratamento da insônia, pois não causava efeitos colaterais. Foi inclusive indicada para o tratamento da insônia infantil e comercializada por 14 companhias farmacêuticas em mais de 40 países, com exceção dos Estados Unidos. Neste país houve uma demora na aprovação e liberação – através de medidas do FDA (*Food and Drug Administration*), da

comercialização deste produto. Logo após a explosão fármaco-comercial deste medicamento, alguns pesquisadores como Lena e McBride² evidenciaram que a talidomida causava defeitos no desenvolvimento corpóreo em recém nascidos (focomelia).

A partir da década de sessenta a talidomida foi proscrita.

Surpreendentemente após o impacto tóxico desta “bisimida”, o fármaco ainda foi usado na terapia de várias doenças. Em 1965 Sheskin² relatou que pacientes com hanseníase (lepra), receberam a talidomida como sedativo e experimentaram um espetacular alívio dos sintomas de sua doença incurável. A pesquisa sobre a aplicação da talidomida para o tratamento da hanseníase continua, e este fármaco foi formalmente aprovado como medicamento pelo FDA (EUA) em 1998, sob supervisão clínica. Sheskin divulgou seus estudos e expectativas sobre este fármaco e, desde então, muitos outros estudos têm sido publicados, mostrando a versatilidade terapêutica desta molécula.

As doenças para as quais a talidomida foi reconhecida por seu valor terapêutico potente são: a artrite reumatóide, a fotodermatite, a síndrome de Behcet, o lúpus eritematoso discóide, doenças oriundas de implantes de órgãos (GHD), a malária, a tuberculose, a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), o câncer de cólon, de mama, de próstata, o mieloma refratário múltiplo, a síndrome mielodisplática, entre outras. Atualmente², a talidomida **(1)** é comercializada como THALO-MID™ pela companhia americana Celgene.



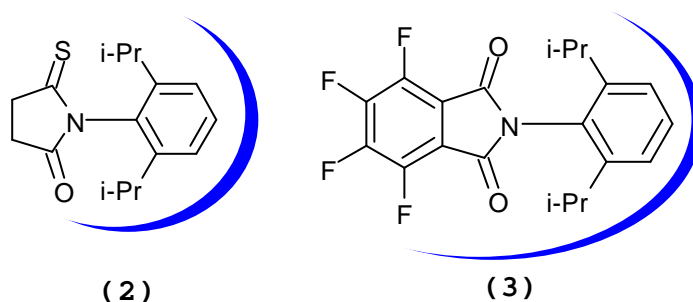
Embora as aplicações farmacológicas tenham sido vastamente investigadas, a ótica das bases moleculares dessas ações não foram elucidadas. Há suposições¹ que o fragmento glutarimídico pode ser responsável pelo efeito sedativo-hipnótico e

que o fragmento ftalimídido N-substituído pode ser relacionado com a atividade antiandrogênica. Complementando as colocações acima é pertinente lembrar que o isômero S tem sido associado à teratogenicidade¹.

1.1.2 Ftalimidas com atividade na produção e regulação da excreção do Fator de Necrose Tumoral- α (do inglês: Tumoral Necrosis Factor- α , TNF- α)³

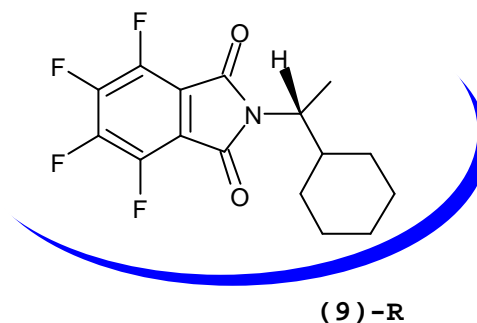
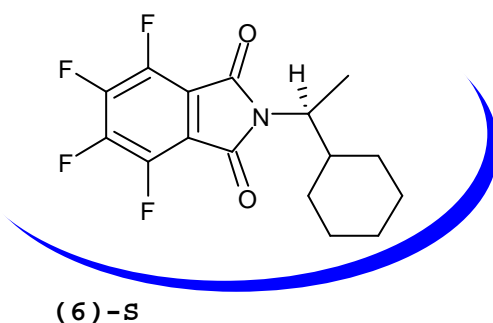
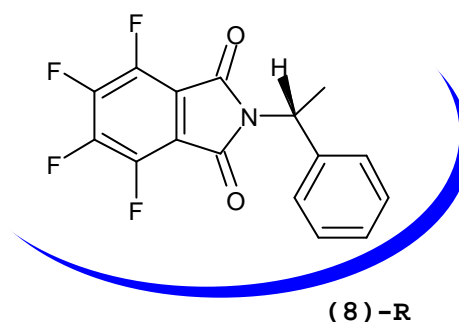
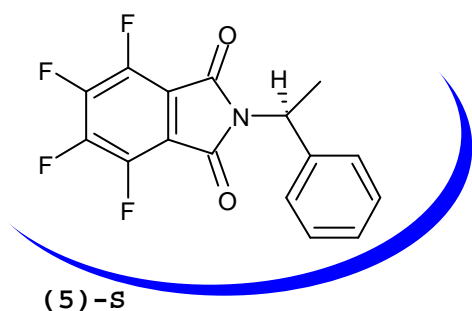
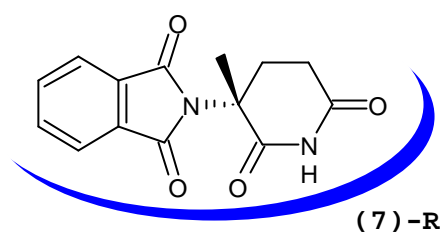
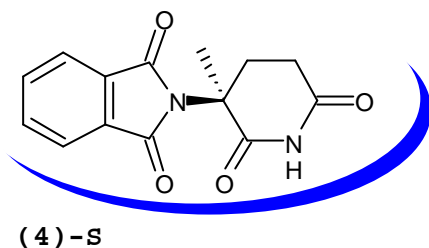
O TNF- α é uma importante citocina; biomolécula produzida por monócitos-macrófagos ativados. A esta citocina atribui-se efeitos favoráveis e desfavoráveis. Os efeitos favoráveis incluem a morte de tumores, o estímulo do sistema imunológico e atuações como fator de crescimento em células-B normais. Os efeitos desfavoráveis incluem a indução de inflamação em tecidos, a ação promotora tumoral, a estimulação da replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV), e a indução à resistência à insulina. Estes efeitos biológicos do TNF- α indicam que o aumento na produção do TNF- α em certos casos, e a inibição da sua produção em outros, podem fazer desta citocina um modificador útil de respostas biológicas.

Hashimoto³ e colaboradores identificaram as moléculas (2) e (3) – análogos da talidomida com simplificação estrutural do grupo glutarimida – como potentes reguladores bidirecionais na produção do TNF- α , ou seja, inibem a produção do TNF- α em células HL-60 – linhagem de células humanas de leucemia – estimuladas pelo ácido ocadáico (OA), e pelo 13-acetato 12-O-tetradecanoilforbol (TPA).



A quiralidade nesta classe de moléculas, como na talidomida, constitui quesito de importância sobre a atuação biológica. A (S)-metil-talidomida (4), (S)-FPTP (5) e a (S)-FPTH (6) demonstram um aumento da produção de TNF- α pelas

células HL-60, induzida pelo TPA, e os enantiômeros (R) correspondentes, o (R)-metil-talidomida (**7**), o (R)-FPTP (**8**) e a (R)-FPTH (**9**), no entanto, são completamente inativos. Contudo os isômeros (**7**)-R, (**8**)-R e (**9**)-R são mais potentes na inibição que os isômeros correspondentes (**4-6**)-S, quando a produção de TNF- α é induzida pelo ácido ocadáico.

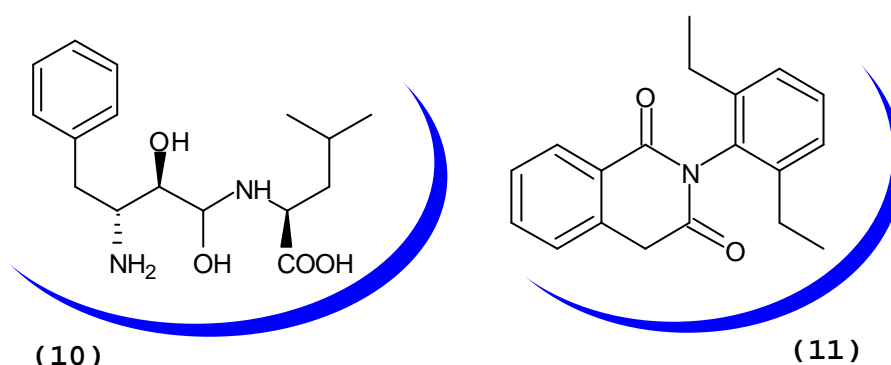


1.1.3 Inibidores específicos de Aminopeptidase sensível à puromicina com esqueleto homoftalimídico ⁴

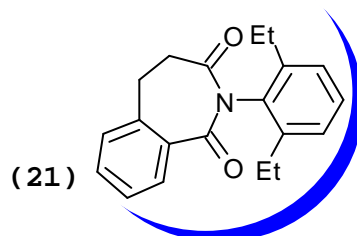
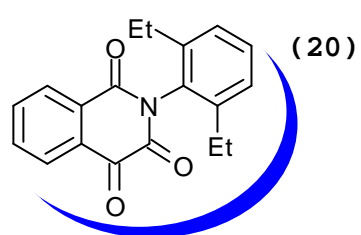
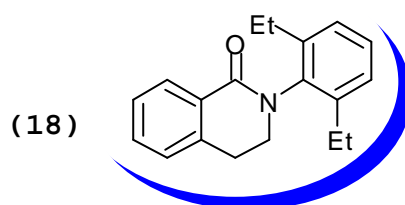
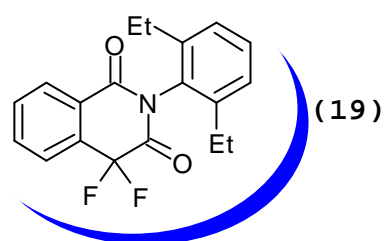
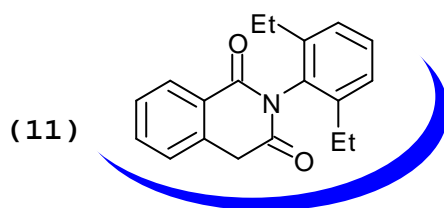
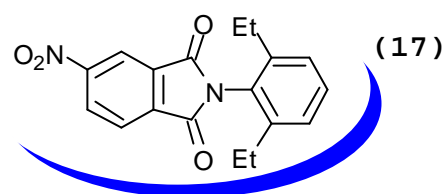
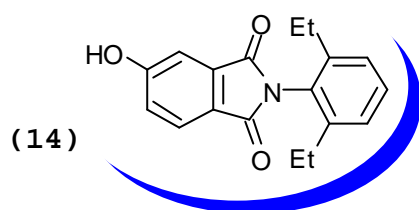
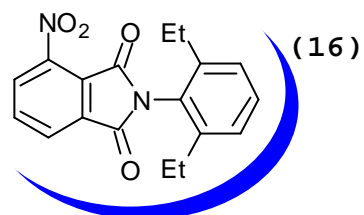
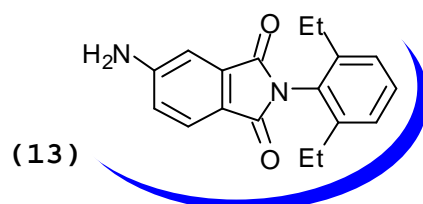
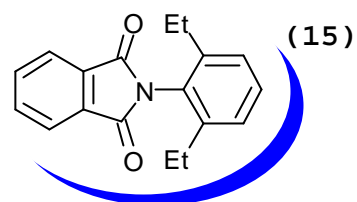
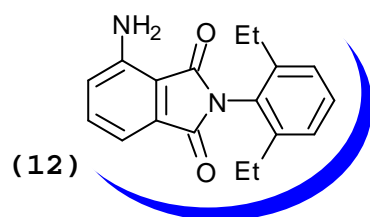
As aminopeptidases são uma classe de enzimas extensamente distribuídas e comandam importantes funções na reciclagem de proteínas e peptídeos, o que

conduz ao reaproveitamento de aminoácidos em vários tecidos. Algumas aminopeptidases atuam com estreita especificidade para com o substrato e sua distribuição é limitada. Suas funções mostram o relacionamento entre fenômenos fisiológicos e patofisiológicos, como a modulação dos eventos efetuados por hormônios peptídicos, na regulação da adesão celular, e portanto, sua mobilidade através da degradação das barreiras de conexão dos tecidos. Os inibidores específicos de aminopeptididases são úteis como bio-sondas – na investigação de funções patofisiológicas destas enzimas e também podem ser úteis clinicamente como inibidores de metástase tumoral.

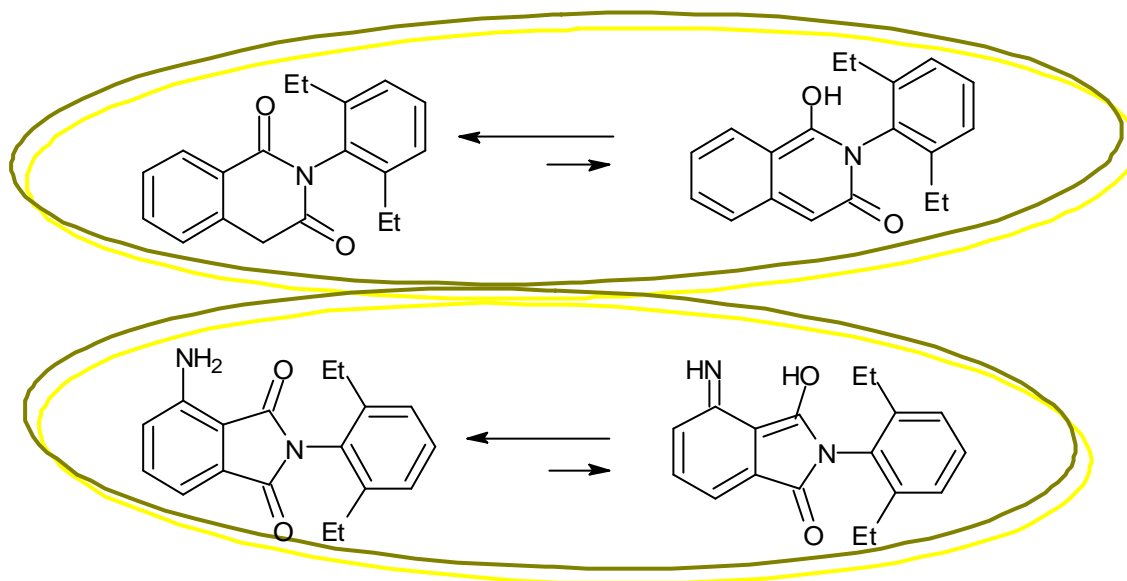
Hashimoto⁴ e colaboradores descreveram algumas ftalimidas e homoftalimidas, estruturalmente derivadas da talidomida, que possuem potente efeito inibitório desta enzima – sendo até mais potente que a bestatina (**10**) –, substância que apesar de numerosas atividades biológicas, não satisfaz com relação a sua farmacocinética. Através de pesquisas foi descoberto o composto (**11**), que é a mais potente das homoftalimidas e ftalimidas testadas.



Os estudos de pesquisadores, como os citados anteriormente, atestam a importância dos domínios eletrônicos e hidrofóbicos sob o anel imídico e a orientação do anel N-arílico. Eles reconheceram os quesitos eletrônicos que tornam as ftalimidas ativas (compostos **12-14**) ou inativas (compostos **15-17**), também reconheceram a homoftalimida ativa (**11**) e sua lactama (**18**) e os análogos di-fluorado (**19**), tri-carbonilado (**20**) e a imída (**21**) que são inativos. Nestes estudos fica evidente a importância de simplificar-se a estrutura protótipo (talidomida) por meio de fragmentos aquirais e da modificação da natureza eletrônica em regiões da molécula.



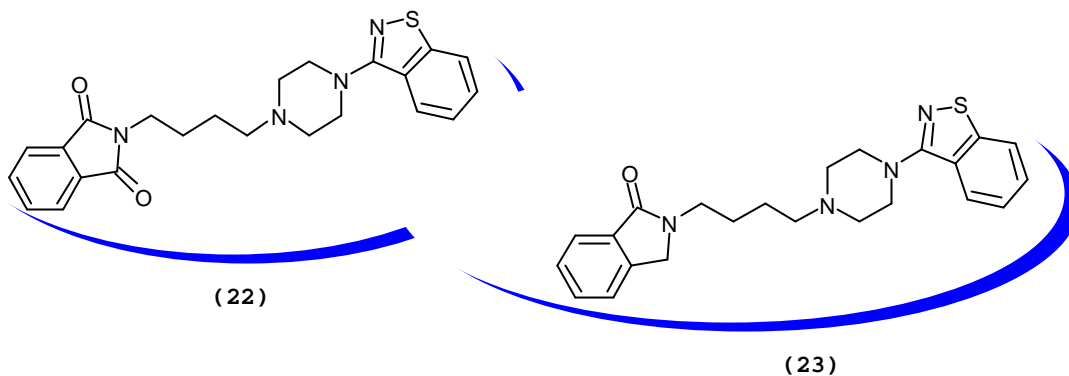
Os compostos ativos são as moléculas que podem tautomerizar sua ligação imídica ou amídica de acordo com o **Esquema I**, sendo inativos os compostos estrategicamente sintetizados (**15**, **16**, **17**, **19**, **20**, **21**), que são impossibilitados de tautomerização.



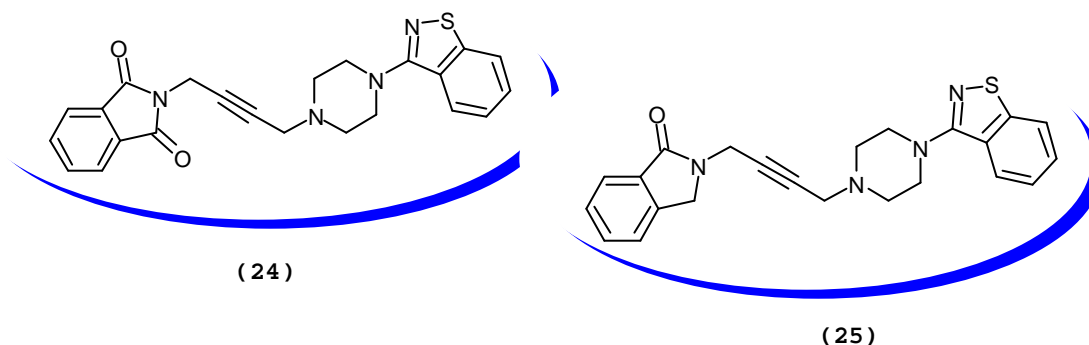
Esquema I-tautomerização dos compostos ativos.

1.1.4 Ftalimidas e isoindolinonas com atividade antipsicóticas⁵

Durante o período de pesquisas em laboratório realizadas por Rigdon e colaboradores, foram sintetizadas séries de ftalimidas e isoindolinonas conectadas ao núcleo 4-(1,2-benzisotiazol-3-il)-1-piperazinil. Estas novas moléculas atuam em testes *in vitro* atipicamente como antagonistas da dopamina nos receptores D₂, bem como dos receptores da serotonina nos receptores 5-HT₂. Estas pesquisas buscaram focalizar as alterações da cadeia que liga o centro imídico, ou isoindolinônico, ao núcleo tiazólico, que permitiram eleger as estruturas moleculares (**22**) e (**23**) como agentes antipsicóticos (neurolépticos) promissores.



O espaçador com quatro carbonos confere aos compostos a conformação apropriada, uma vez que os derivados (24) e (25) possuem baixa atividade.

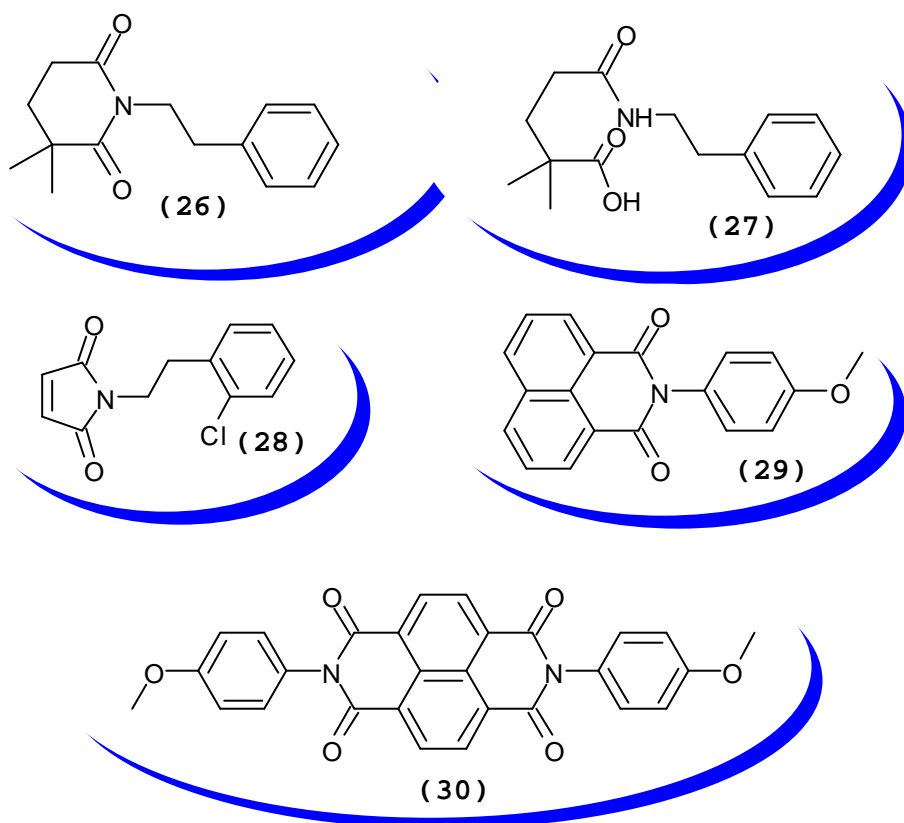


1.1.5 Imidas cíclicas com atividade analgésica

Diversas imidas cíclicas⁶, bem como seus ácidos âmicos, produzem analgesia em camundongos com contrações dolorosas provocadas por injeção intraperitoneal de ácido acético – com doses significativamente menores que a aspirina e o paracetamol. Destacam-se, entre os homólogos do alcalóide filantimida (26), novos elementos moleculares que promovem o efeito analgésico.

O ácido glutâmico (27) é mais ativo que a glutarimida, a qual possui discreta atividade. A maleimida (28) é mais ativa que o análogo *para*-substituído, o que indica a importância estérica neste fragmento de molécula. A naftalimida⁷ (29) é 270 vezes

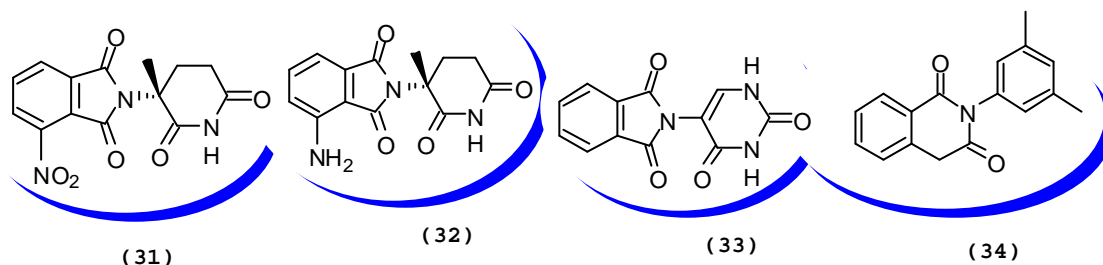
mais ativa, em escala molar, que a aspirina. Sua série foi sintetizada com os substituintes do método de Topliss, o que permitiu evidenciar a influência eletrônica sobre a molécula, sendo os mais ativos da série os compostos com substituintes eletrodoadores. O derivado bisnaftalimídico (**30**) é uma molécula que possui o efeito analgésico mais pronunciado ilustrando o incremento no efeito analgésico do segundo anel imídico.



A atividade das imidas cíclicas, comprovadamente para as maleimidas, reside na inativação pela formação de um aduto covalente da prostaglandina H_2 sintase⁸ (COX). Ela pode surgir em duas formas, COX-1 e COX-2. A primeira é uma enzima constitutiva presente em vários tecidos do corpo e produz as prostaglandinas necessárias para a manutenção da vida celular. A produção na COX-2 é induzida e sua superexpressão é detectada em vários tumores, sendo portanto, um alvo terapêutico adicional que auxiliaria os procedimentos quimioterápicos. É produzida também em processos de inflamação crônica e quando ocorre lesão tecidual. Estas enzimas catalisam a primeira etapa na biossíntese das prostaglandinas, convertendo

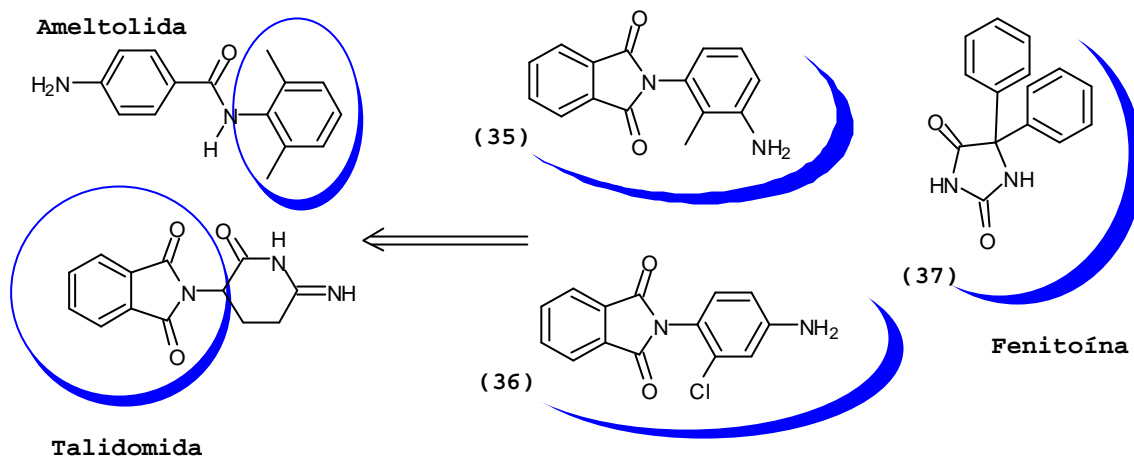
o ácido araquidônico à prostaglandina H_2 , a qual é rapidamente convertida nos diversos prostaglanóides⁹. As prostaglandinas iniciam e modulam os processos fisiológicos como por exemplo, a agregação plaquetária, a excreção renal e a inflamação. Também estão envolvidas em processos patológicos como as doenças cardiovasculares, o câncer e as doenças inflamatórias⁹.

A talidomida¹⁰, na forma de racemato, possui atividade moderada na inibição da COX, sendo de forma sutil seletiva sobre a COX-2. Entretanto, a (*R*)-metiltalidomida inibe com forte preferência a COX-2. A (*S*)-metiltalidomida é inativa. A introdução de substituintes no fragmento ftaloil demonstra uma bidirecionalidade na ação, ou seja, com o grupo 4-NO₂ (**31**) a (*R*)-metiltalidomida torna-se seletiva para a COX-1 e com grupo 4-NH₂ (**32**) torna-se seletiva para a COX-2. A quiralidade pode não ser uma exigência à seletividade, pois compostos como o derivado pirimidino diona (**33**) é seletivo para a COX-2. O composto mais ativo encontrado foi a homoftalimida (**34**), com potência relativa 38 vezes maior que a aspirina, sem no entanto, ocorrer seletividade frente a estas isoenzimas.



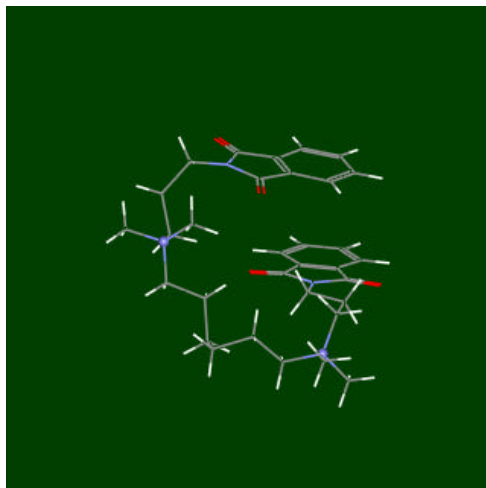
1.1.6 N-fenilftalimidas com atividade anticonvulsivante

As imidas¹¹ (**35**) e (**36**) possuem as mesmas propriedades anticonvulsivantes da fenitoína (**37**). A ação biológica destas moléculas consiste no bloqueio dos canais de sódio. Estas imidas foram planejadas pelo método químico medicinal de hibridização molecular, a partir da talidomida e da ameltolida, cujo fim possibilita explorar farmacologicamente novas moléculas.



1.1.7 Imidas cíclicas com atividade alostérica.

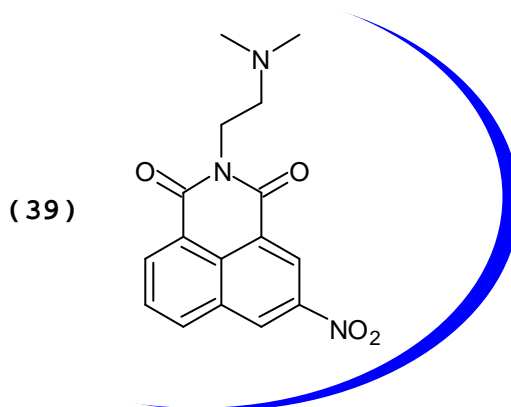
A modulação alostérica de um ligante unido a um receptor cria uma abordagem terapêutica alternativa, que possibilita controlar o tempo de ação de um fármaco em um sítio enzimático. O efeito alostérico compreende a formação de complexos ternários, que consiste no receptor protéico, o ligante (fármaco) alojado ao sítio ortostérico e o agente alostérico. Esta associação pode resultar numa dissociação alterada do ligante. Um dos focos desta ação alostérica, extensivamente estudado pelo pesquisador Holzgrabe e colaboradores, pode ser demonstrado pelo exemplo do receptor muscarínico da acetilcolina, especialmente, o subtipo M_2 . Os modelos farmacofóricos¹² oriundos das explorações farmacológicas demonstram que a molécula deve possuir uma alta simetria (devida à simetria do sítio alostérico do receptor da acetilcolina). Um exemplo deste modelo molecular pode ser descrito através de duas áreas aromáticas, as quais estão ligadas a uma cadeia que contenha dois nitrogênios positivamente carregados e afastados por uma distância de aproximadamente 10 Å. Esta molécula pode possuir uma conformação do tipo “sanduíche”. A molécula W84 (**38**) representa esse “esqueleto” bioativo. Os fragmentos N-propil ftalimida estão ligados entre si por um espaçador hexano-bisamônio. A ftalimida contendo substituintes volumosos e hidrofóbicos aumentam o efeito alostérico, bem como imidas mais volumosas como a naftalimida.



(38)

1.1.8 Imidas cíclicas com atividade antitumoral.

O exemplo célebre de imidas com atividade antitumoral é o da mitonafida (39).



Sua composição apresentou o melhor índice na inibição da replicação de células tumorais, como no caso do carcinoma de Ehrlich e Yoshida¹³. A ação antitumoral resulta na distorção do ADN (ácido desoxiribonuclêico) pelo intercalamento da mitonafida, que provoca conseqüente alteração da interação de proteínas nucleares sobre o ADN. Ocorre a formação de complexos reversíveis ternários entre o fármaco-ADN-proteína (enzima)¹⁴. Esse fármaco estabiliza os

complexos que se formam entre o ADN e a topoisomerase II. Assim retardam a replicação celular. O grupo N,N-di-Metil é o que melhor desempenha o papel de estabilizante destes complexos¹⁵.

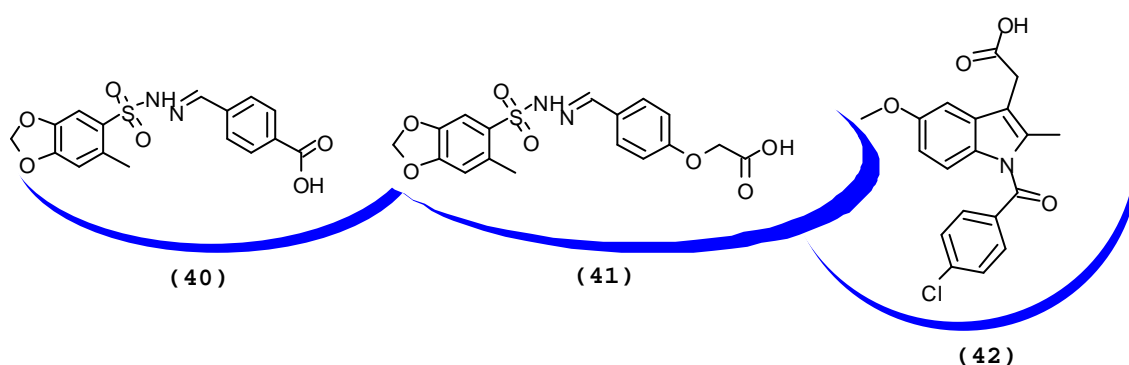
1.2 ATUAÇÕES FARMACOLÓGICAS DE SULFONIL-HIDRAZONAS

Existem poucos estudos sobre as atividades biológicas das sulfonil-hidrazonas. As principais atividades estão expostas neste subcapítulo.

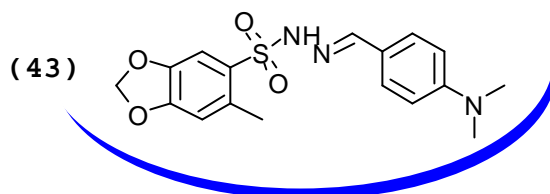
1.2.1 Sulfonil-hidrazonas com atividade analgésica

As sulfonil-hidrazonas derivadas do safrol (**40**, **41**), o componente majoritário do óleo essencial do sassafrás (*Ocotea pretiosa* sp), possuem atividades similares a da dipirona. Esta similaridade foi comprovada através de testes de analgesia pela método de contração abdominal em camundongos induzida por ácido acético¹⁶.

Estes compostos foram sintetizados com o intuito de que um grupo ácido carboxílico pudesse interagir com o bioreceptor de maneira semelhante a interação da indometacina (**42**).

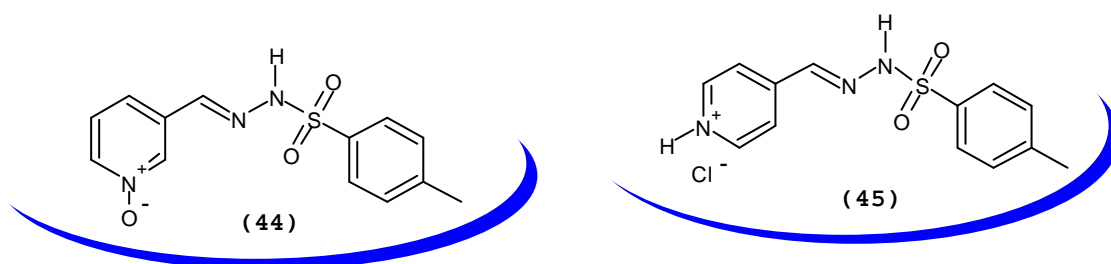


O grupo ácido demonstrou sua eficiência, enquanto que o derivado fenólico mostrou ter um efeito modesto ao ser comparado ao grupo ácido. Quanto à natureza eletrônica, o derivado (**43**) substituído com o grupo 4'-N,N-di-Metil¹⁷ na posição *para* da porção benzilidênica, mostrou ter a mesma eficácia da dipirona.

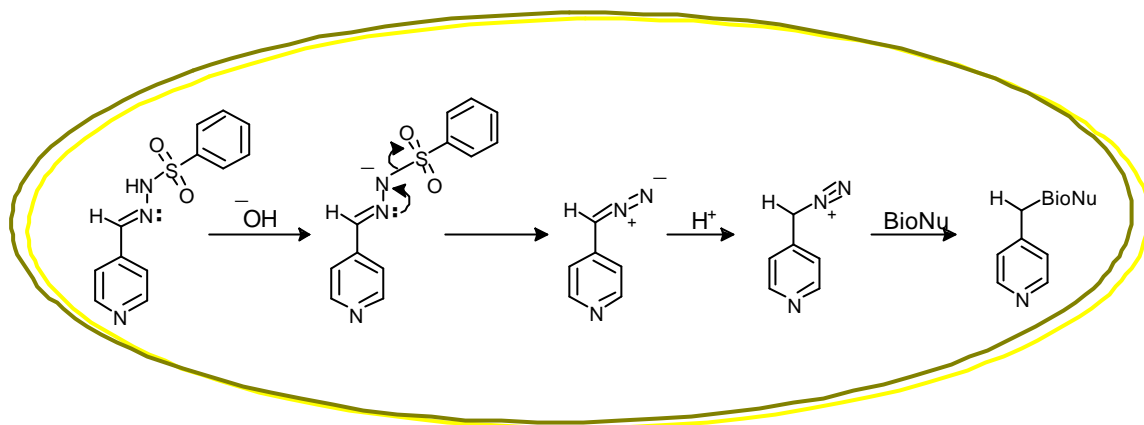


1.2.2 Sulfonil-hidrazonas com atividade antineoplásica.

As arilsulfonil-hidrazonas da N-óxido-2-formilpiridina possuem uma variedade de elementos moleculares, que agem contra os efeitos malignos de tumores transplantados em camundongos como o Sarcoma180, o Hepatoma 129, o carcinoma de Ehrlich e a Leucemia L1210¹⁸. Foi demonstrado que este composto inibe moderadamente a incorporação de [³H]-timidina e [³H]-uridina sobre o ADN e ARN (ácido ribonuclêico) respectivamente. Os compostos (44) e (45)¹⁹ representam os mais ativos e produzem uma sobrevida aos animais tratados, duas vezes maior em relação aos animais não tratados com esses compostos. Esses compostos demonstram a possibilidade regioquímica na atividade biológica.



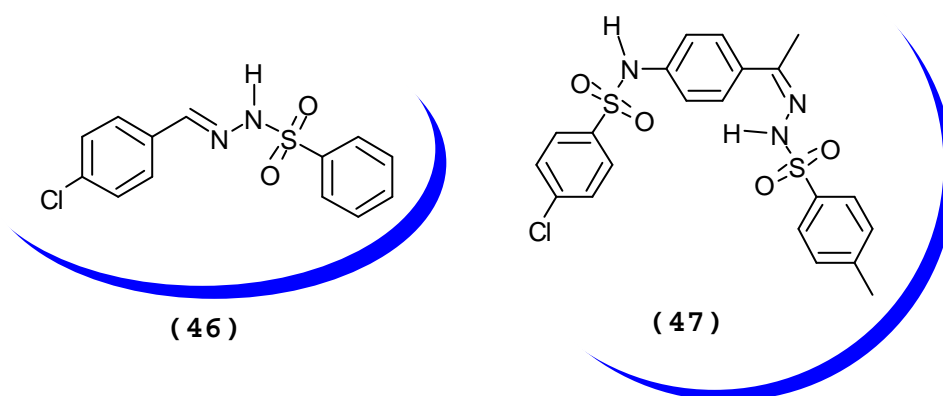
Para essas sulfonil-hidrazonas, foi proposto um mecanismo de alquilação *in vivo*¹⁹ (**Esquema II**) que seria responsável pela atuação biológica destas sulfonil-hidrazonas. O carbono imínico é a espécie alquilante e o processo acontece via eliminação de nitrogênio molecular.



Esquema II- mecanismo de alquilação *in vivo* de sulfonil-hidrazonas.

1.2.3 Sulfonil-hidrazonas com atividade antimicrobiana²⁰

Os derivados sulfonil-hidrazínicos possuem um grande efeito de letalidade sobre microorganismos. Atuam como fungicidas, antibacterianos e antituberculosos. Alguns destes derivados, as sulfonilhidrazonas (46) e (47), inibem a proliferação das bactérias *S. aureus* e *E. coli* com grandes zonas de inibição.



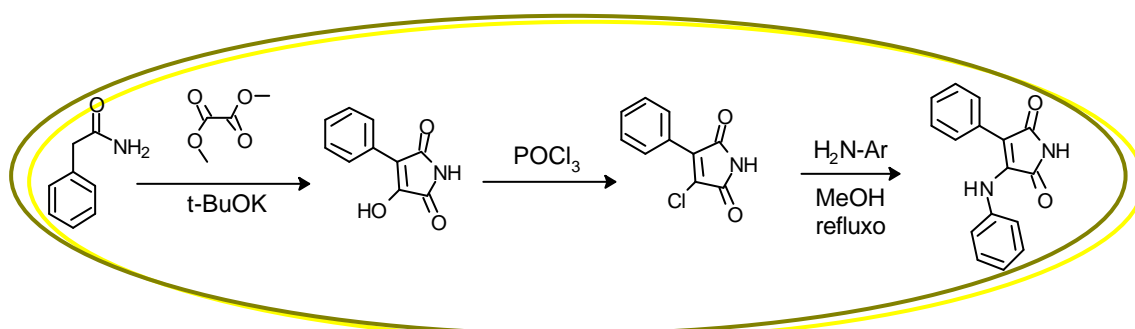
1.3. ASPECTOS QUIMICO-SINTÉTICOS DAS IMIDAS CÍCLICAS E SULFONIL - HIDRAZONAS

1.3.1 Imidas cíclicas

O método original para a preparação das imidas constitui da reação de anidridos cíclicos, ou os ácidos dicarboxílicos, levada a cabo por meio de quantidades equimolares de amônia ou aminas monossubstituídas em aquecimento inferior a 200°C²¹. Esta reação pode ser conduzida em refluxo de ácido acético²¹, ou etanol¹³ (nos casos das naftalimidas N-alquil).

Emprega-se uma condição branda para se preparar succinimidas, maleimidas, ftalimidas e glutarimidas na reação dos respectivos ácidos âmicos com um ácido de Lewis como o brometo de zinco e o hexametildisilazano, sob processo de refluxo de benzeno²². Ocorre, então, a sililação do ácido âmico, formando o éster trimetilsilano que decompõem-se para a imida.

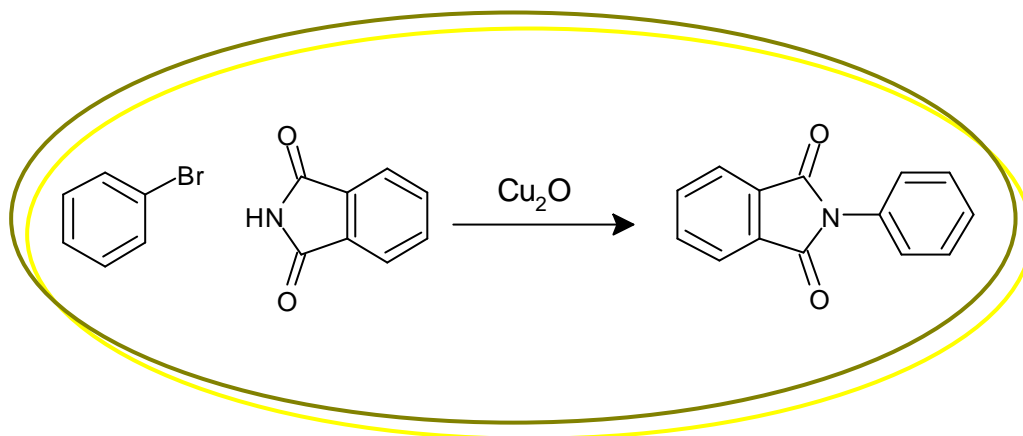
As 3-anilino-4-arilmaleimidas²³ são moléculas sintetizadas por meio da condensação, induzida por base, de arilacetamidas com oxalato de metila. Processo que forma a 3-hidróxi-4-arilmaleimida. A 4-cloro-4-arilmaleimida provém do tratamento da 3-hidróxi-4-arilmaleimida com cloreto de oxalila. O tratamento deste intermediário sintético com anilinas forma a maleimida em questão. O **Esquema III** mostra as etapas da síntese.



Esquema III- síntese de 3-anilino-4-arilmaleimidas.

Os ésteres glioxilados podem ser usados no lugar do oxalato de metila e produzem maleimidas dissustituídas²¹.

As imidas podem ser empregadas como nucleófilos em substituições nucleofílicas, como no caso da síntese da N-fenilftalimida²⁴, utilizando óxido de cobre como catalisador, **Esquema IV**.

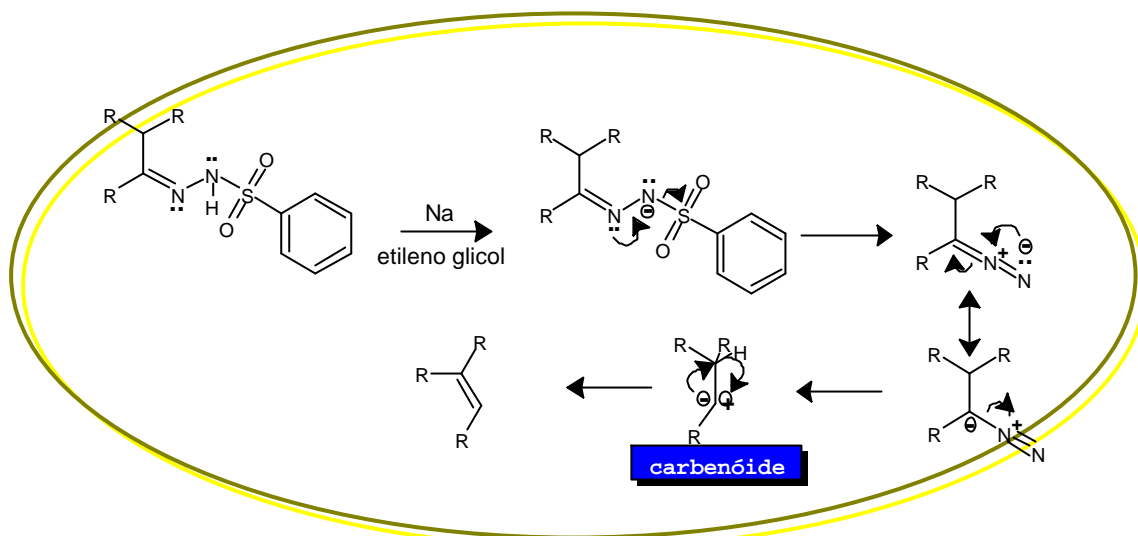


Esquema IV-síntese da N-fenilftalimida.

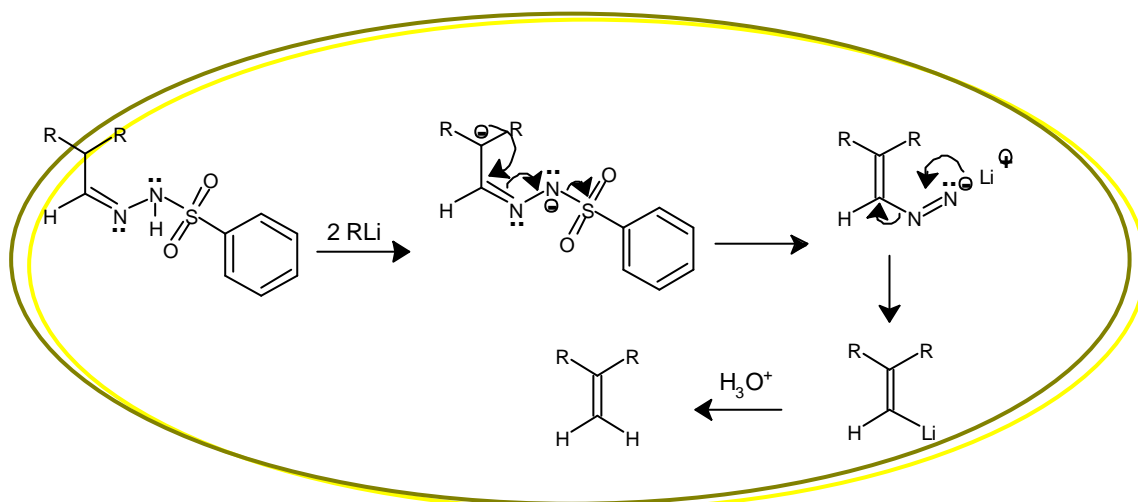
1.3.2 Sulfonil-hidrazonas

A reação de Bamford-Stevens²⁴ representa um processo de oxidação alifática, conduzida pela reação da sulfonil-hidrazona com uma base, como Na em etilenoglicol – gerando uma espécie carbeno; e seu colapso gera o alceno freqüentemente mais substituído.

Na reação de Shapiro são empregados dois equivalentes de um organo lítio (MeLi, por exemplo) e através desta reação se produz um alceno menos substituído. Esta reação evolui com a formação de um intermediário diânion, ao contrário da formação de carbeno, que ocorre na reação de Bamford-Stevens. Os esquemas seguintes mostram os mecanismos propostos: Bamford-Stevens (**Esquema V**) e Shapiro (**Esquema VI**).

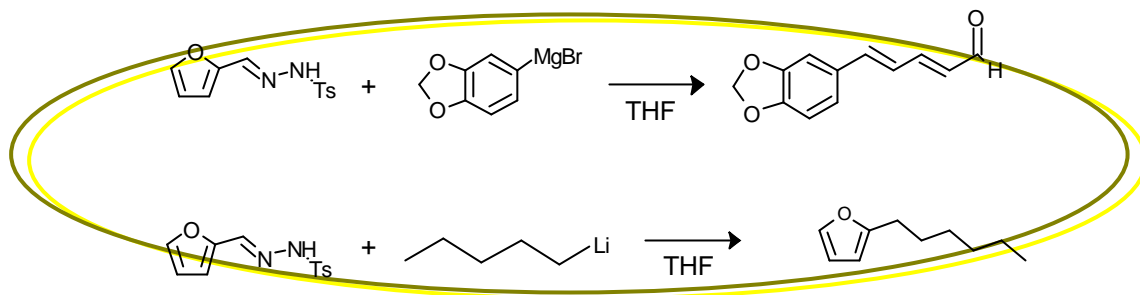


Esquema V-mecanismo de oxidação alifática. Bamford-Stevens.



Esquema VI-mecanismo de oxidação alifática. Shapiro.

O emprego de organometálicos, como nucleófilos²⁵, **Esquema VII**, em reações com sulfonil-hidrazonas, gera produtos de fragmentação alquilativa quando o aldeído for o 2-furfural e o nucleófilo for um Grignard de arila. A alquilação redutiva é obtida com alquil metálico (como butilítio ou um Grignard alquílico) e aldeídos aromáticos, furfural ou tiofenal.



Esquema VII - reações de adição sobre sulfonil-hidrazonas.

Uma outra reação clássica é redução de tosil-hidrazonas por LiAlH_4 ou NaBH_4 converte o grupo imina em metileno²⁶. A reação provavelmente estimula a formação de diiminas. Os rendimentos são excelentes quando o agente redutor for o NaBH_3CN .

1.4 OS ASPECTOS ESTÉREOQUÍMICOS DAS HIDRAZONAS

Hidrazonas derivadas da 2,4-dinitro fenil-hidrazida apresentam-se como uma mistura de diastereoisômeros.

Essa composição diastereoisomérica é dependente das interações estéricas exercidas pelo grupo aromático sobre os substituintes oriundos da cetona²⁷. As proporções destes isômeros não é afetada com a mudança de solvente. A Tabela 1 demonstra a composição de dez 2,4-dinitrofenil-hidrazonas (DNP), (48) determinada pelas integrais dos sinais apropriados na RMN^1H .

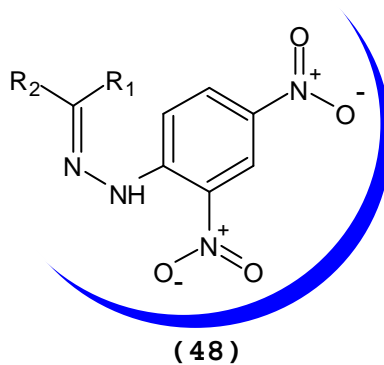


Tabela 1. Composição *E-Z* de Dnp em Solução de Clorofórmio

R ₁	R ₂	% E (Metil)	% Z
Metil	Etil	80	20
Metil	n-propil	80	20
Metil	Isopropil	90 ^a	10 ^a
Metil	Ciclopropil	92 ^a	8 ^a
Metil	t-butil	100	0
Metil	Fenil	63	37
Etil	Ciclopropil	65 (etil)	35
n-propil	Ciclopropil	45(n-propil)	55
Isopropil	Ciclopropil	55(isopropil)	45

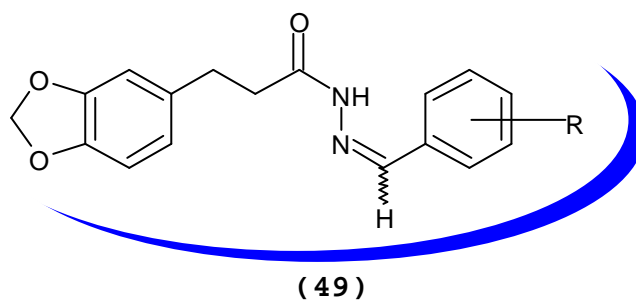
^a solução de ácido trifluoracético

A reação do acetaldeído com 2,4-dinitrofenil-hidrazida produz a hidrazona correspondente na configuração *E* ²⁸. Contudo, em solução, utilizando vários tipos de solventes, a molécula original isomeriza-se para a configuração *Z*. Esta conversão não é completa. As proporções são de aproximadamente 30% para o isômero *Z*, em solventes que não estabelecem ligações de hidrogênio, como CH₂Br₂ e C₆H₅NO₂; e aproximadamente 15% em solventes como DMSO, DMF e piridina. O equilíbrio é rapidamente alcançado com o uso de traços de ácido sulfúrico.

A razão maior entre os isômeros, nestes solventes, se deve ao fato da existência da formação de ligação de hidrogênio entre o solvente e o hidrogênio NH.

3,4-dioximetileno-benzoil-hidrazonas possuem a configuração *E* em solução de DMSO¹⁷. Entretanto, o composto (**49**), existe como uma mistura de dois isômeros com concentrações relativas, aproximadamente, idênticas.

Desta forma, a etapa da condensação, na sua síntese, não é um processo diastereoseletivo – provavelmente pela menor interação estérica entre os anéis aromáticos, causada pelo espaçador etilênico.



1.5 OS ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE ESPÉCIES REATIVAS DE NITROGÊNIO E OXIGÊNIO

1.5.1 O óxido de Nitrogênio

O monóxido de nitrogênio, também conhecido como óxido nítrico, NO^\bullet é um dos compostos mais nocivos despejados na atmosfera e conhecido como um poluente ambiental extremamente tóxico. Aparece na atmosfera através dos escapamentos dos automóveis. Há duas décadas atrás o NO^\bullet era considerado apenas mais uma molécula tóxica, destruidora da camada de ozônio, suspeita de ser carcinogênica e precursora de chuva ácida. Mas nos últimos anos, diversas linhas de pesquisa estabeleceram a importância crucial do NO^\bullet no corpo humano. Em 1992, foi comprovado que esta molécula é essencial para o bom funcionamento do cérebro, artérias, sistema imunológico, do fígado, do pâncreas, do útero, dos nervos periféricos e dos pulmões, fazendo com que este radical fosse eleito pela revista *Science* a molécula do ano ²⁹. O NO^\bullet é sintetizado e secretado por um grande número de células de mamíferos. Em pequenas doses, é considerada benéfica para o ser humano ³⁰. O NO^\bullet ainda ajuda a manter a pressão arterial através da sua capacidade de dilatar vasos sanguíneos. É utilizada pelos fagócitos para oxidar corpos estranhos e é provavelmente o maior mediador bioquímico na ereção peniana, estando intimamente ligado a várias funções celulares. Uma característica importante é a sua capacidade de difusão, a qual permite atravessar membranas celulares pelo simples processo de difusão ³¹.

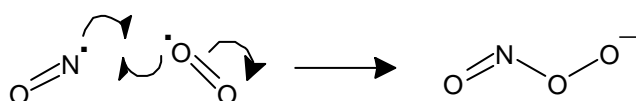
O NO^\bullet é um componente essencial em muitos processos fisiológicos, tais como a regulação de funções cardiovasculares, a comunicação entre o sistema nervoso central e o periférico, a mediação da defesa contra microorganismos, na aprendizagem e memória de longa duração. A atividade biológica do NO^\bullet parece estar relacionada a nitrosilação de proteínas contendo centros metálicos ferro ³¹.

O NO^\bullet pode, diversas vezes, funcionar como um neurotransmissor especial, pois seu funcionamento é diferente dos clássicos (serotonina e dopamina por exemplo). É produzido localmente, no momento preciso onde ocorra necessidade. Não apresenta mecanismos especiais de liberação e também não é armazenado em vesículas especiais ³¹. Ele é sintetizado no organismo³²⁻³⁴ por uma enzima denominada óxido nítrico sintase (NOS), através da oxidação da L-arginina pelo O_2 . Primeiramente, ocorre a reação de hidroxilação da L-arginina através da oxidação direta de 1 mol de NADPH (*nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, um importante agente redutor biológico*) pela NOS, a qual forma a N-hidroxi-L-arginina. Subseqüentemente, após esta reação, ocorre a oxidação de 0,5 mol de NADPH e TBH_4 a partir da N-hidroxi-L-arginina para a formação de NO^\bullet e L-citrulina ³⁵.

Existem diversas isoformas da NOS que são classificadas em dois grupos. No primeiro grupo estão as óxido nítrico sintases constitutivas (cNOS), sintetizadas pelas células endoteliais (eNOS) e neuronais (nNOS). Estas enzimas são dependentes da concentração intracelular de cálcio e produzem NO^\bullet em pequenas quantidades, para funções delicadas, como a regulação da pressão arterial e a neurotransmissão, respectivamente. No segundo grupo estão as óxido nítrico sintase induzida (iNOS), sintetizadas por células, como os macrófagos ativados por meio da resposta a estímulos externos, produzindo NO^\bullet em quantidades relativamente maiores para funções como a defesa celular ³⁶.

1.5.2 O peroxinitrito (ONOO^-)

A formação biológica do peroxinitrito (ONOO^-) ocorre principalmente pela reação do NO^\bullet com $\text{O}_2^{\cdot-}$ segundo a equação 1. Não é um radical livre, mas uma ERN (Espécie Reativa de Nitrogênio) com uma poderosa ação oxidante que parece atuar na oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), a qual é considerada o ponto de partida na formação de placas na arterosclerose ^{37, 38}, estando assim envolvido em doenças coronarianas.



Equação 1

O peroxinitrito é capaz de decompor-se para liberar o radical $\bullet\text{OH}$ independente da catálise metálica.

Um importante aspecto a ser considerado nos sistemas biológicos é a diferença de reatividade entre o ONOO^- e NO^\bullet sobre células e tecidos. O NO^\bullet é um fraco agente oxidante e também é um fraco agente nitrante. Ele participa intensamente nas interações reversíveis dos centros metálicos, atua nas reações de combinação radical- radical e reações de nitrosilação por via da formação do intermediário trióxido de nitrogênio (N_2O_3). E o ONOO^- , ao contrário do radical NO^\bullet , é um forte agente oxidante e nitrante e um fraco agente nitrosilante. Desta maneira, várias oxidações e reações de nitração medidas em sondas ou biomoléculas para formação de NO^\bullet refletem a presença do ONOO^- ³⁸.

A geração do ONOO^- contra microorganismos invasores em pequenas doses pode ser benéfica ao organismo, mas quando produzido em excesso pode danificar muitas moléculas biológicas. A bioquímica desta espécie reativa tem sido pesquisada exaustivamente. No processo inflamatório, é capaz de nitrar e oxidar biomoléculas, compostos fenólicos, tais como a tirosina, causando um impacto considerável sobre a estrutura celular³⁹.

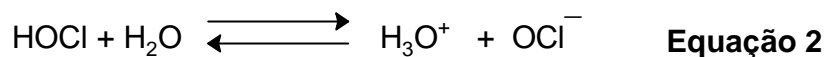
1.5.3 O ácido Hipocloroso (HOCl)

O ácido hipocloroso, HOCl, é produzido fisiologicamente pela enzima mieloperoxidase, presente principalmente em neutrófilos ativados. A atividade fisiológica predominante desta enzima⁴⁰ é converter H_2O_2 e Cl^- em HOCl, embora ela também seja capaz de degradar H_2O_2 a O_2 , sendo que cerca de 5% do H_2O_2 consumido por esta enzima é utilizado na produção de radicais tirosila. A principal função desta enzima é eliminar infecções e inflamações.

A mieloperoxidase tem sido objeto de pesquisas por ocasionar numerosas doenças inflamatórias, tais como a artrite reumatóides, a síndrome de sofrimento respiratório de adultos, a esclerose múltipla, a fibrose cística, a injúria de pulmão neonatal. Também tem sido proposto que ela oxida lipoproteínas de baixa densidade na arteriosclerose e promove a leucemia mielóide aguda⁴⁰.

O HOCl possui vital importância na função da morte de microorganismos invasores, tendo alta reatividade e habilidade de danificar biomoléculas por oxidação direta ou por decomposição para formar o gás cloro, Cl_2 ⁴⁰.

É um ácido fraco com pKa de 7,5 e no pH fisiológico (pH 7,4) está 50 % dissociado conforme a equação 2.



Em concentrações de 10-20 μM de HOCl oxidam os grupos sulfidril (-SH) da membrana plasmática. Nestas concentrações ocorrem vários distúrbios nas funções das proteínas da membrana externa, tais como a inativação de glicose e de transportadores de aminoácidos. Também nestes teores o HOCl danifica a capacidade de bombeamento do K^+ . Altas doses de HOCl ($> 50 \mu\text{M}$) causam um dano oxidativo generalizado do grupo SH ⁴⁰.

2 OS OBJETIVOS

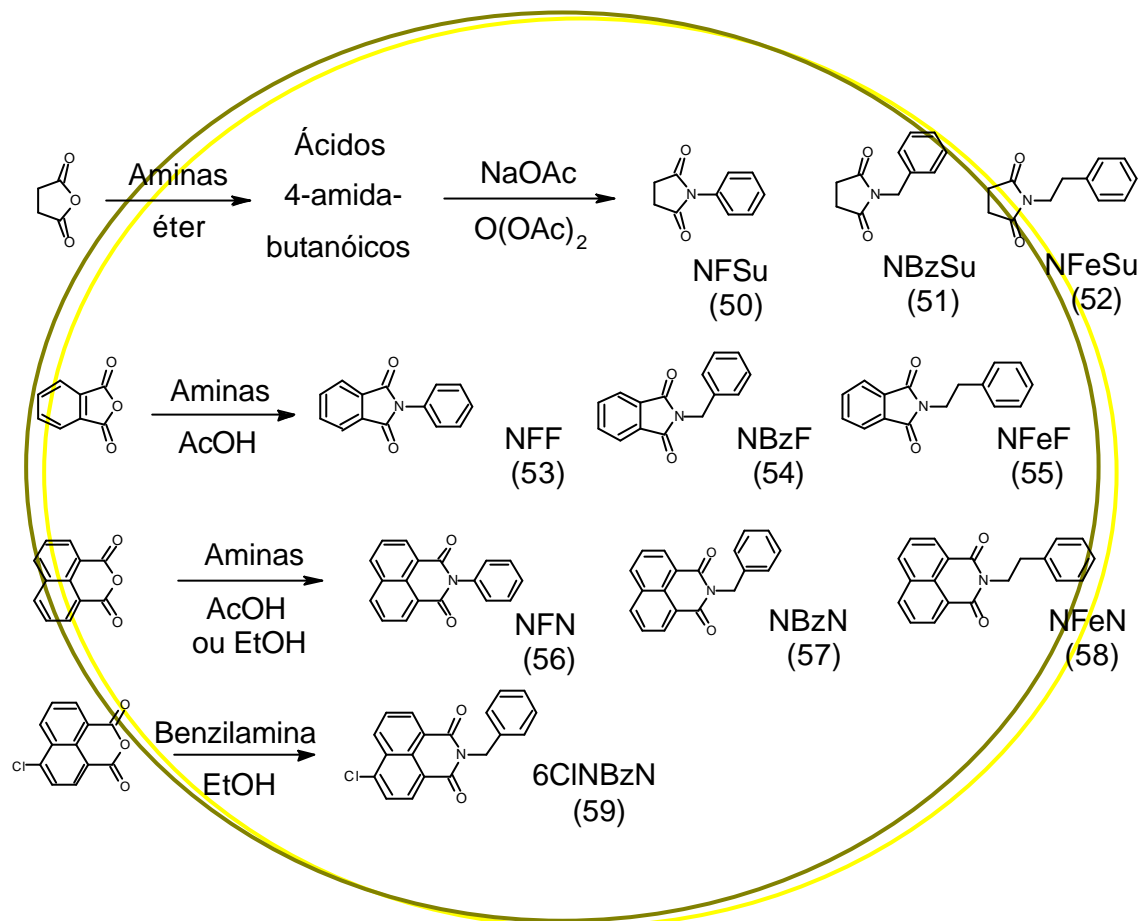
Nosso laboratório desenvolve uma linha de pesquisa para a criação de moléculas matrizes a partir de imidas cíclicas, as quais atuam na cascata de biossíntese do ácido araquidônico, promovendo uma atividade analgésica, possivelmente através da inibição da enzima ciclo-oxigenase. Um, entre outros, objetivos deste trabalho é de sintetizar imidas cíclicas que contenham o fragmento sulfonil-hidrazônico, disponibilizando-as para avaliá-las frente a esta atuação biológica. Os conceitos e estudos utilizados para definir estas moléculas baseiam-se na hipótese de que elas possam inativar as ciclo-oxigenase de forma eficiente, pois contêm dois centros eletrofílicos – as carbonilas ciclo imídicas e a carbonila imínica da sulfonil-hidrazona.^{7, 18} Um segundo motivo definidor da escolha do fragmento sulfonil-hidrazônico deve-se ao fato de ele pertencer a um grupo funcional pouco estudado em aplicações biológicas.

As explorações biológicas foram iniciadas por meio de testes de toxicidade (viabilidade celular de hepatócitos de ratos) e ao mesmo tempo pela curiosidade de conjugar as atuações biológicas destes compostos, buscamos, através de parcerias com o Departamento de Ciências Farmacêuticas, levantar informações sobre a capacidade de inibir enzimas atuantes em problemas inflamatórios crônicos e em doenças degenerativas, como a óxido nítrico sintase e a mieloperoxidase – sendo esta exploração farmacológica inédita. Devida à conjugação eletrônica do fragmento sulfonil-hidrazônico, achamos conveniente medir a citoproteção destas moléculas aos radicais ascorbila – avaliando-as como seqüestradores (scavengers).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 SÍNTESES

3.1.1 Síntese dos ciclos imídicos



Esquema VIII-ciclos imídicos sintetizados.

Foi adotado o método tradicional ⁴¹ para a preparação de ciclos imídicos simples para as sínteses destes compostos, Esquema VIII. O processo compõe-se pela reação de anidridos cíclicos com aminas em um solvente sob ebulição.

A reação de aminas alifáticas com o anidrido naftálico, substituído com cloro ou não, em etanol, forneceu os melhores resultados. Em ácido acético, a reação não se completa, uma vez que a potencialidade da nucleofilicidade da amina é reduzida quando exposta ao meio ácido. No entanto, as mesmas condições foram testadas na síntese da N-feniletalimida (NFeF **55**), refluxo em etanol, e após 6 horas não houve

a conversão do ácido âmico, que inicialmente se forma como produto intermediário, no ciclo imídico. Mas, com 1 hora de refluxo em ácido acético obteve-se esta imida.

Essas observações podem ser interpretadas de forma a intuir que a conformação do ácido naftalâmico possui um alinhamento de orbitais, da amida e do ácido, mais adequada para a ciclização – a condição reacional é branda. Este comportamento conformacional para ácido ftalâmico desfavorece a sua ciclização. Deve existir ligação de hidrogênio entre o ácido e a amida, estabilizando este ácido âmico de forma eficiente.

A síntese das succinimidas realizou-se de forma clássica, em duas etapas⁴¹. O ácido succinâmico foi isolado e a ciclização foi promovida com aquecimento a 100°C, tendo o anidrido acético como elemento desidratante, além de 2 equivalentes de acetato de sódio, para contrabalançar a formação de ácido acético.

A conformação estendida do ácido 4-amido butanóico necessita que o grupo ácido torne-se uma espécie mais eletrofílica.

Esta espécie é gerada com anidrido acético, que promove um equilíbrio com o ácido 4-amido butanóico, gerando a espécie anidrido 4-amido aceto butanóico, que leva ao produto. Esta reação pode ser catalisada por um catalisador de transferência de grupo como o DMAP (dimetilaminopiridina).

Serão apresentados na Tabela 2 os pontos de fusão, as deformações das carbonilas ciclo imídicas no infra-vermelho, simétrica e assimétrica respectivamente, e os rendimentos.

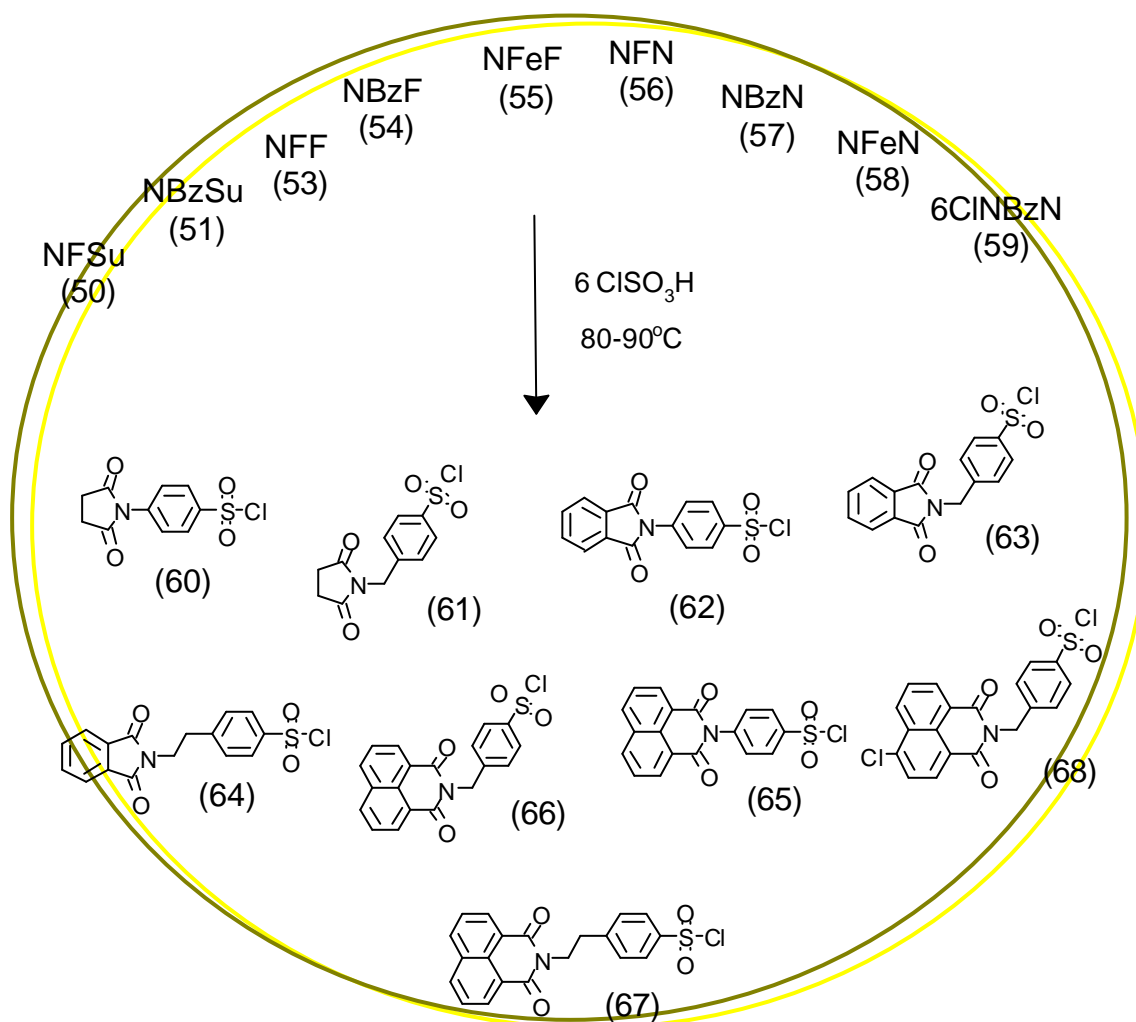
Tabela 2. Propriedades Dos Ciclos Imídicos

Ciclo imídico	p.f. (°C)	p.f. (°C) [*]	I.V. (KBr)	Rendimento
NFSu 50	157	156-157 ⁴¹	1774, 1706	70%
NBzSu 51	100-101		1771, 1697	70%
NFeSu 52	134-135		1771, 1700	60%
NFF 53	209,5	207-208 ⁴¹	1707	91%
NBzF 54	117		1767, 1713	96%
NFeF 55	131-132		1766, 1708	70%
NFN 56	183,3-183,6		1702, 1660	70%
NBzN 57	197,5-198,2		1690, 1653	96%
NFeN 58	150		1694, 1655	74%
6CINBzN 59	195			90%

Obtidos na literatura.

3.1.2 A síntese dos cloretos de sulfonila

Todos os cloretos de sulfonila foram obtidos através da reação dos substratos ciclo imídicos com 6 equivalentes de ácido clorossulfônico, Esquema IX. O processo foi desenvolvido por meio da adição fracionada dos ciclos imídicos sobre o ácido em banho de gelo e, subsequente, aquecimento a 80-90°C, por tempos que variam de acordo com o substrato. A Tabela 3 resume os nomes dos cloretos, que são associados aos nomes usuais dos ciclos imídicos sintetizados, os pontos de fusão, o tempo de aquecimento e os rendimentos.



Esquema IX-síntese dos cloretos de sulfonila.

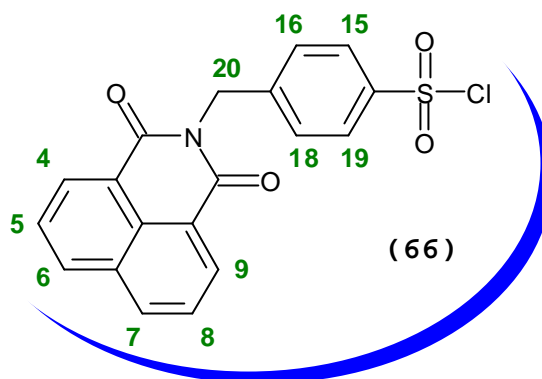
Tabela 3. Pontos de Fusão dos Cloretos de Sulfonila

Cloreto de Sulfonila	p.f.: (°C)	Tempo (min.)	p.f.: (°C) [*]	Rendimento
NFSuSO ₂ Cl (60)	192,9-194,1	40	192-194 ⁴¹	62%
NbzSuSO ₂ Cl (61)	147,3-147,8	20		85%
NFFSO ₂ Cl (62)	238-239	120	235-237 ⁴¹	90%
NBzFSO ₂ Cl (63)	118,2-118,9	5		85%
NFeFSO ₂ Cl (64)	157	5		
NFNSO ₂ Cl (65)	170	240		65%
NBzNSO ₂ Cl (66)	154	5		97%
NfeNSO ₂ Cl (67)	262	30		70%
6CINBzNSO ₂ Cl (68)	147	5		Quantitativo

Obtidos na literatura.

Alternativamente, estes compostos podem ser sintetizados adicionando o ácido clorossulfônico à solução da imída em diclorometano, mantendo a mistura com agitação magnética por tempo necessário⁴². Eliminam-se os produtos solúveis em água, diluindo-se a mistura reacional com diclorometano e sucessivas extrações da água. O rendimento é semelhante [somente o NBzNSO₂Cl (**66**) foi sintetizado desta maneira].

O procedimento para se isolar os cloretos consiste em despejar a solução reacional a uma mistura de gelo/água, coletando o precipitado por meio de filtração e lavando-o com água. Quando os cloretos derivam das naftalimidas o ácido sulfônico que surge pela hidrólise parcial do cloreto de sulfonila não é eliminado durante o processo, permanecendo como impureza (apresenta o r_f com cerca de metade do valor do cloreto de sulfonila, quando o eluente for acetato:hexanos 1/1). Para o cloreto (**66**), a porcentagem deste ácido na amostra, analisada por RMN-¹H, (CDCl₃, TMS), corresponde a 6% pela referência feita ao singlete dos hidrogênios 20 do cloreto, que ressoam em 5,47ppm.



Os hidrogênios 20 (Espectro 1, **Anexos**) do ácido ressoam em 5,35 ppm e os hidrogênios 15, 19, 16 e 18 ressoam entre 7,54 e 7,62 ppm respectivamente, apresentando, desta forma, uma diferença de deslocamento químico, $\Delta\nu$, de 0,0003 Hz. Este $\Delta\nu$ é de pequena magnitude, pelo fato de que o momento de dipolo ser zero D, no fragmento arilsulfonil do ácido sulfônico e diferente de zero no cloreto de sulfonila. Este último apresenta uma $\Delta\nu$ de 0,002 Hz.

Estas suposições são fundamentadas quando se calcula o momento de dipolo do ácido *p*-tolueno sulfônico e do cloreto do para-tolueno sulfonila. Esses apresentam, respectivamente, momentos de dipolo nulo e de 2,79 D.

Desta forma, este contaminante é facilmente eliminado, devido ao teor, das etapas sintéticas subseqüentes.

Os tempos das clorossulfonações, em alguns casos, são apenas ilustrativos, pois os tempos não indicam o final do consumo da imida. Durante algumas sínteses, houve a dificuldade de acompanhar a reação via CCD – uma vez que o r_f do cloreto é muito semelhante ao do ciclo imídico – como no caso da N-fenilnaftalimida (**56**). A reação foi acompanhada com a eluição sequenciada com um eluente de polaridade reduzida, como acetato de etila:hexanos 1/4 (v/v). O cloreto gradualmente ficou retido à sílica, enquanto a imida permaneceu eluindo. Procedeu-se varias eluições usando a mesma placa, até atingir a retenção total do cloreto.

A ausência da imída na fração reacional indicou que o cloreto pode ser isolado. A presença espectroscópica de um estiramento assimétrico e um simétrico em 1375 e 1185 cm^{-1} respectivamente, comprova a formação do produto da substituição eletrofílica aromática⁴³.

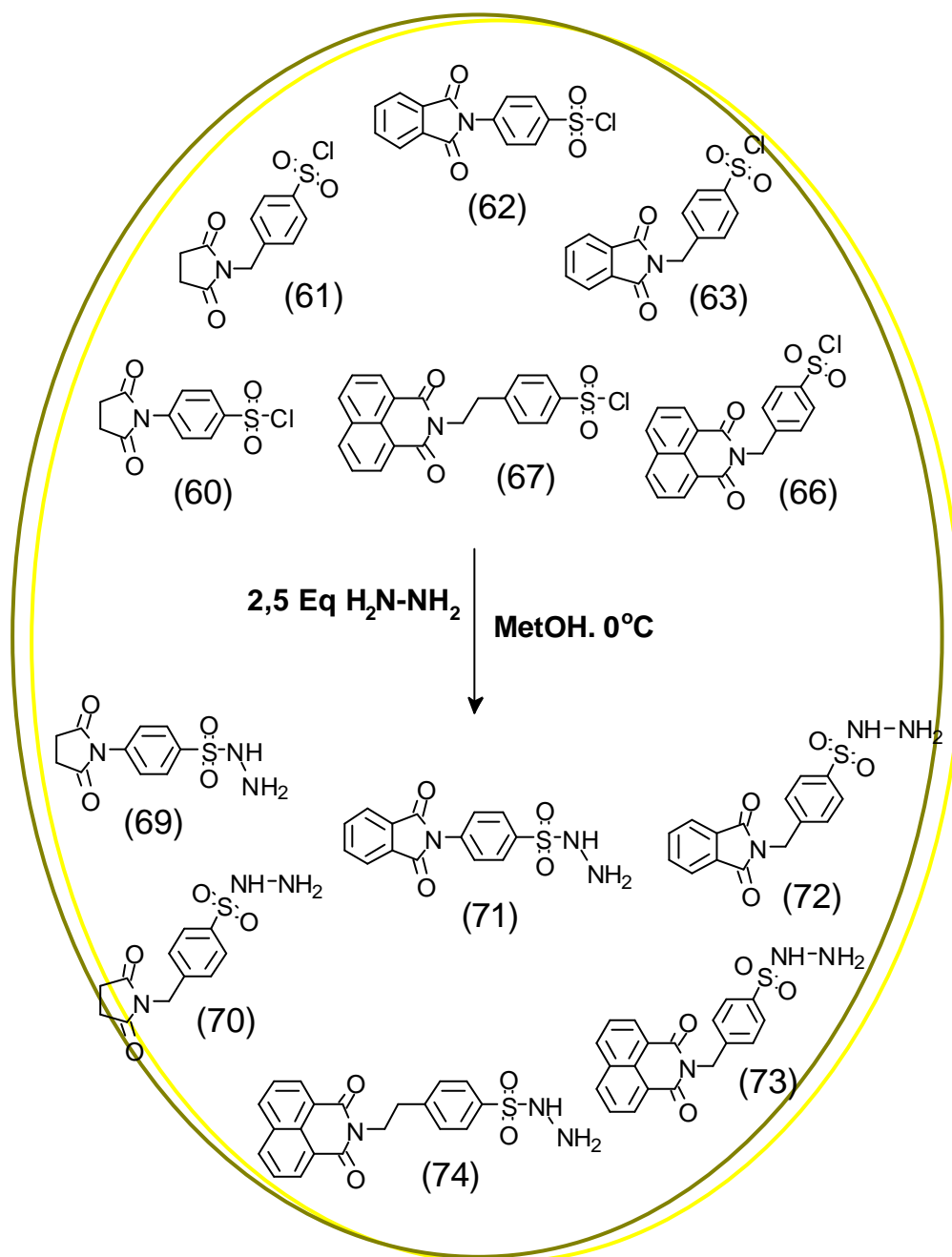
3.1.3 A síntese das sulfonil-hidrazidas, SH

Todas as *SH* são obtidas com a adição gradual de uma solução aquosa diluída a 55% de hidrazina a uma suspensão metanólica do cloreto de sulfonila, Esquema III. A reação pode ser obtida por meio do banho de gelo (recomendável, para se prevenir o ataque ao ciclo imídico, comum na síntese de Gabriel⁴⁴) ou em temperatura ambiente, desde que a adição seja gota a gota. Devido à diferença dos pesos moleculares dos reagentes, geralmente 10 a 15 gotas são suficientes para se preparar um grama de *SH*. Portanto, é uma reação confiável e rápida. A Tabela 4 demonstra os nomes usuais das sulfonil-hidrazidas, seus pontos de fusão e os rendimentos.

Tabela 4. Pontos De Fusão Das *Sh*.

Sulfonil-hidrazidas	p.f. (°C)	p.f. (°C)*	Rendimento
NFSuSH (69)	163,7-164,2	163-164 ⁴¹	80%
NBzSuSH (70)	174,7-175,2		90%
NFFSH (71)	170,3-171,4	171-172 ⁴¹	85%
NBzF SH (72)	160,2-161,4		85%
NBzNSH (73)	165		90%
NFeNSH (74)	195		90%

* Obtidos na Literatura



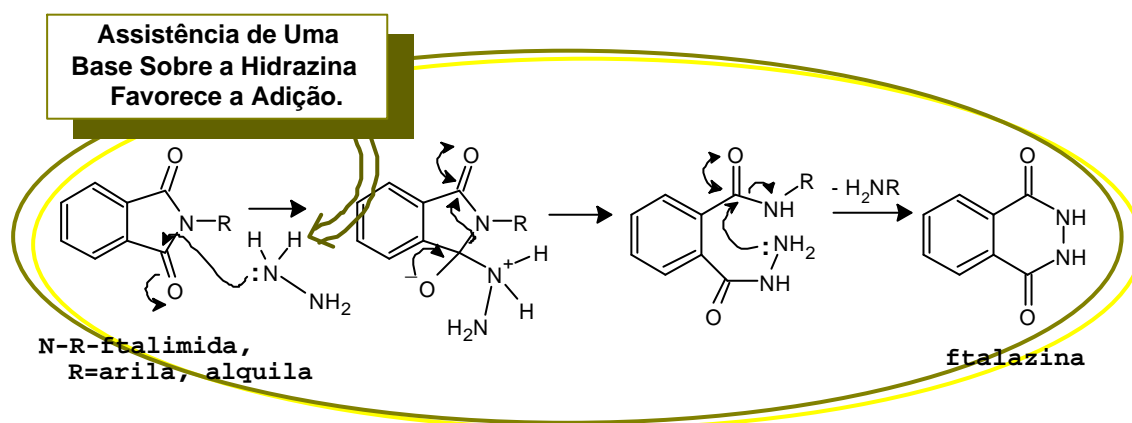
Esquema X-síntese das sulfonil-hidrazidas.

A hidrazina é empregada em excesso de 2 equivalentes, uma vez que se produz HCl , e é conveniente que estejam neutralizados. Foi adicionado também 0,5-1 equivalente, em relação ao cloreto, para se neutralizar eventuais ácidos presentes,

bem como, o ácido sulfônico presente em alguns cloretos de sulfonila. Termina-se a reação evaporando-se o metanol e adicionando-se poucos mililitros de água. Agita-se por poucos minutos e então verte-se o conteúdo sobre uma mistura de água/gelo e coleta-se o sólido por filtração.

No método original empregava-se à adição de uma quantidade equimolar de trietilamina e hidrato de hidrazina⁴¹ que formava um subproduto, a ftalazina (1,4-ftalazinadiona). Fato semelhante⁴¹ ocorre quando se reage o cloreto de *p*-fenilmaleimida com três equivalentes de dimetilamina, em acetonitrila. Esta, por sua vez, forma três produtos, que inclui um produto de aminólise do ciclo imídico. Este composto, é produzido com 65% de rendimento, quando a mesma reação é refeita em metanol.

Em meio básico (excesso de hidrato de hidrazina, ou uma outra base como trietilamina) pode ocorrer a hidrazinólise do anel imídico, uma vez que haveria assistências que fariam a base, ou o solvente, tornar-se mais nucleofílico, de acordo com o Esquema XI, que demonstra a formação da ftalazina. A adição lenta faz com que o meio não se torne básico, favorecendo a substituição nucleofílica à adição.

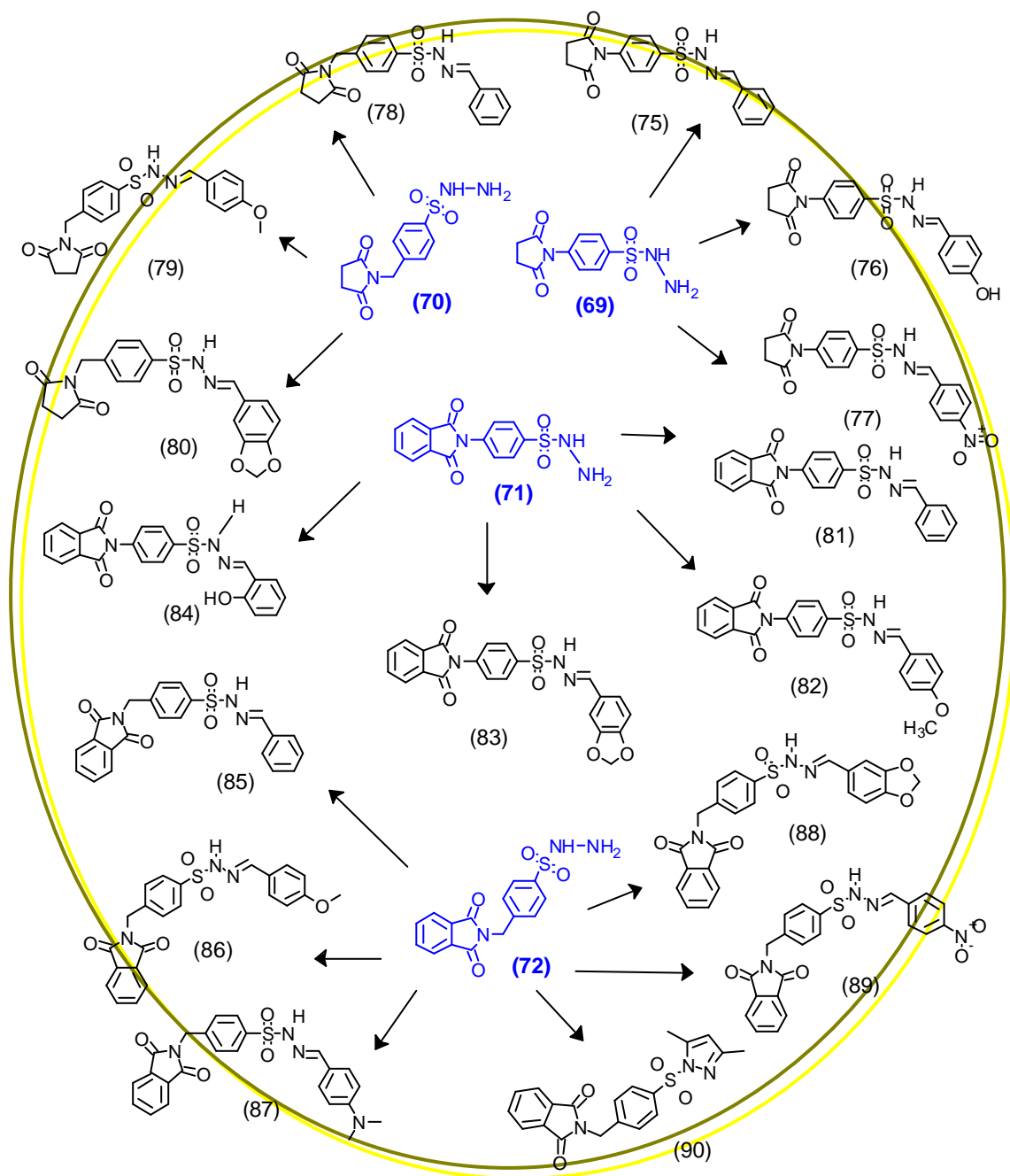


Esquema XI-formação da ftalazina.

3.1.4 A síntese das sulfonil-hidrazonas, SHd.

As moléculas-alvo deste trabalho são alcançadas com a adição da sulfonil-hidrazida sobre uma solução etanólica do aldeído e HCl como catalizador¹⁶,

Esquema XII. A Tabela 5 mostra os nomes usuais das *SHd*, seus pontos de fusão, as deformações das carbonilas imídicas e os deslocamentos dos hidrogênios sulfonil-hidrazônicos e aldoimínicos.



Esquema XII-síntese das sulfonil-hidrazonas.

Esquema XII -síntese das sulfonil-hidrazonas

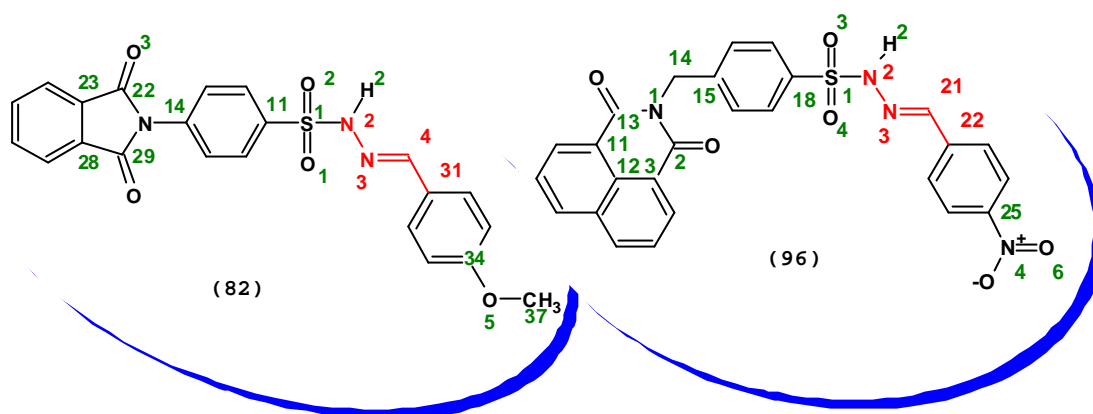
Tabela 5. Pontos de fusão, deformações de estiramentos das carbonilas imídicas e deslocamentos em ppm na RMN-¹H.

<i>SHd</i>	p.f.(°C)	p.f.(°C) ^c	IV (cm ⁻¹)	-NH-	-N=CH-
NFSuSHONA(75)	156,2-156,8		1778-1704	11,62	7,94
NFSuSH4OH(76)	230 ^{***}		1772-1686	11,31	7,84
NFSuSH4NO ₂ (77)	207 ^{***}		1778-1710		8,06
NBzSuSHONA(78)	200 ^{***}		1768-1700	11,57	7,84
NbzSuSH4OMe(79)	184 ^{***}		1768-1700	11,33	7,85
NBzSuSHpip ^a (80)	200 ^{***}		1768-1702	7,66	7,26 ^{**}
NFFSHONA(81)	204,6-204,8	196-197 ⁴¹	1780-1740	7,83 ^{**}	7,78 ^{**}
NFFSH4OMe(82)	207,4-207,9	180-181 ⁴¹	1780-1742	11,44	7,90
NFFSHpip(83)	226 ^{***}		1790-1742	11,49	7,87
NFFSH2OH(84)	226-227			11,63	8,22
NBzFSHONA(85)	162,2-162,8		1774-1706	11,55	
NBzFSH4OMe(86)	200 ^{***}		1770-1710	11,44	
NBzFSH4NNdiMe(87)	198 ^{***}		1772-1710	7,78	7,40 ^{**}
NBzFSHpip(88)	180 ^{***}		1770-1712	11,10	7,10
NBzFSH4NO ₂ (89)	220 ^{***}		1768-1700		
NBzFSHdiazo(90)	188		1768-1718		
NBzNSHONA(91)	215		1698-1656	11,52	7,84
NBzNSH4OH(92)	198 ^{***}		1686-1646	11,20	7,77
NBzNSH4OMe(93)	190 ^{***}		1700-1658	11,30	7,81
NBzNSH3OMe(94)	220 ^{***}		1696-1650	11,51	7,79
NBzNSH4OH3OMe(95)	230 ^{***}		1696-1652	11,19	7,83
NBzNSH4NO ₂ (96)	229 ^{***}		1700-1660	12,00	8,14
NBzNSHBMPA(97)	229 ^{***}		1696-1648	11,35	8,21

^aobtido na literatura, pip: o aldeído é o piperonal; ^cexperimento com CDCl₃ como solvente; decomposição

3.2 A RESOLUÇÃO ESTRUTURAL

A [NFFSH4OMe, (82)] e [NBzNHS4NO₂, (96)] são dois compostos que tiveram suas estruturas resolvidas por análise de difração de raios-X e representam dois homólogos distintos, N-fenilftalimida e N-benzilnaftalimida.



As numerações utilizadas nas estruturas acima provêm da numeração atribuída aos cristais. Nas caracterizações da seção experimental não será utilizada esta numeração de compostos, pois não estão de acordo com os nomes oficiais destas moléculas.

Através da numeração cristalográfica buscou-se os comprimentos de ligações e ângulos dos fragmentos mais importantes destas moléculas e constitui a Tabela 6. As Tabelas 7 e 8 indicam os elementos geométricos das ligações de hidrogênio, para NFFSH4OMe e NBzNSH4NO₂.

Tabela 6. Comprimentos de Ligação(Å) e Ângulos(°) de Fragmentos Moleculares Selecionados da NFFSH4OMe e NBzNSH4NO₂.

NFFSH4OMe (82)		NBzNHS4NO ₂ (96)	
S(1)-O(1)	1,4231(18)	S(1)-O(4)	1,423(3)
S(1)-O(2)	1,4289(17)	S(1)-O(3)	1,429(2)
S(1)-N(2)	1,615(2)	S(1)-N(2)	1,630(3)
S(1)-C(11)	1,768(2)	S(1)-C(18)	1,762(3)
N(2)-N(3)	1,384(3)	N(1)-C(2)	1,388(4)
N(2)-C(4)	1,275(3)	N(1)-C(13)	1,394(5)
C(4)-C(31)	1,454(3)	N(1)-C(14)	1,478(4)
1,478(4)	1,484(3)	N(2)-N(3)	1,394(3)
C(23)-C(28)	1,383(3)	N(3)-C(21)	1,263(4)
C(28)-C(29)	1,478(3)	C(21)-C(22)	1,462(4)
N(21)-C(29)	1,409(3)	C(11)-C(12)	1,399(5)

O(5)-C(34)	1,360(3)	C(11)-C(13)	1,481(5)
O(5)-C(37)	1,428(3)	C(3)-C(12)	1,404(5)
N(21)-C(14)	1,429(3)	C(2)-C(3)	1,461(5)
N(21)-C(22)-C(23)	106,10(18)	C(25)-N(4)	1,474(4)
N(21)-C(29)-C(28)	106,13(19)	N(4)-O(6)	1,200(4)
C(28)-C(23)-C(22)	121,2(2)	O(4)-S(1)-O(3)	120,25(16)
C(23)-C(28)-C(28)	108,55(19)	O(4)-S(1)-N(2)	108,61(16)
O(1)-S(1)-O(2)	119,68(11)	O(3)-S(1)-N(2)	103,65(16)
O(1)-S(1)-N(2)	110,47(11)	O(4)-S(1)-C(18)	107,95(17)
O(2)-S(1)-N(2)	104,06(11)	O(3)-S(1)-C(18)	109,02(15)
O(1)-S(1)-C(11)	107,37	N(2)-S(1)-C(18)	106,58(14)
N(2)-S(1)-C(11)	106,50(11)	N(3)-N(2)-S(1)	115,3(2)
N(3)-N(2)-S(1)	118,53(17)	C(21)-N(3)-N(2)	115,5(3)
C(4)-N(3)-N(2)	115,3(2)	N(1)-C(2)-C(3)	117,9(3)
N(3)-C(4)-C(31)	121,9(2)	C(12)-C(3)-C(2)	120,1(3)
		C(12)-C(11)-C(13)	119,9(3)
		N(3)-C(21)-C(22)	120,5(3)

Tabela 7. Geometria das Pontes de Hidrogênio (Å, °) para a NFFSH4OMe.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(2)-H(2N)...O(3)	0,86(2)	2,12(3)	2,930(3)	158(2)

Tabela 8. Geometria das Pontes de Hidrogênio (Å, °) para a NBzNSH4NO₂.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	D(D...A)	<(DHA)
N(2)-H(2N)...O(1S)	0,80	1,99	2,764(4)	163,1

A configuração da ligação aldóimínica (posições vermelhas nas estruturas **(82)** e **(96)**) é evidenciada na estrutura cristalina como sendo *E*. Esta configuração deve ser unânime para todas as SHd (sulfonil-hidrazonas), que se originam de aldeídos aromáticos *p*-substituídos. Esta hipótese baseia-se em experimentos de ressonância magnética nuclear em solução de DMSO-*d*⁶ (dimetilsulfóxido-deuterado), pois em espectros de RMN-¹H e de ¹³C os sinais referentes ao hidrogênio hidrazônico (NH, 11,44 ppm) e ao fragmento aldóimínico (-N=CH-, 7,90 e 148,19 ppm) permanecem constantes em espectros realizados com 30 dias de intervalo — indicando que esta ligação permanece na mesma configuração em solução de DMSO —, ou seja, a ligação imínica não isomerizou para a forma *Z*. Outras SHd tiveram espectros de RMN-¹H realizados em duplicata (30 dias de intervalo), a NFSuSHONA (**75**) e a NBzNSHONA (**91**) e os deslocamentos

permaneceram idênticos: 11,62 e 7,94, 11,52 e 7,84 ppm para os hidrogênios NH e –N=CH– da primeira e segunda *SHd* respectivamente. A Figura 1 mostra a estrutura química do composto NFFSH4OMe (**82**) obtida da análise cristalográfica. A ligação aldolímica corresponde aos átomos C4 e N3.

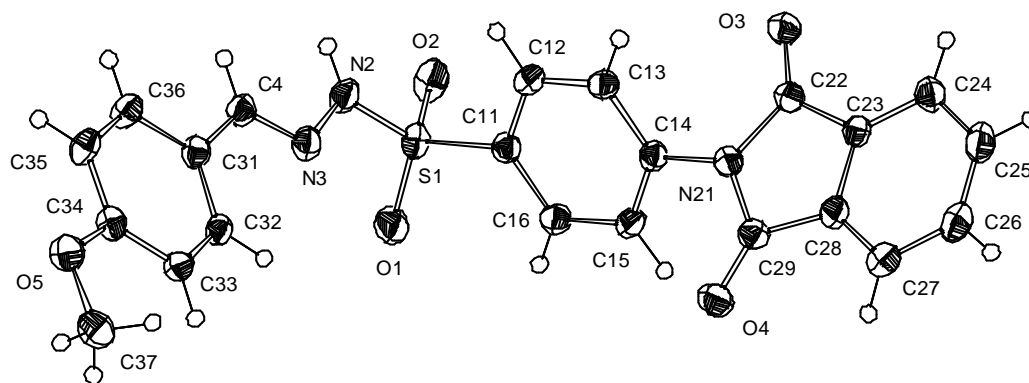


Figura 1. Visão em perspectiva da NFFSH4OMe, com átomos não-hidrogenóides, representados por elipsóides de 50% de probabilidade.

A análise cristalográfica do composto NBzNSH4NO₂ (**96**) revela uma conformação diferenciada. A Figura 2 representa um fragmento do empacotamento cristalino, na qual as moléculas associam-se na forma de dímeros. A existência de interações π - π possivelmente seja responsável pela conformação fechada à estendida.

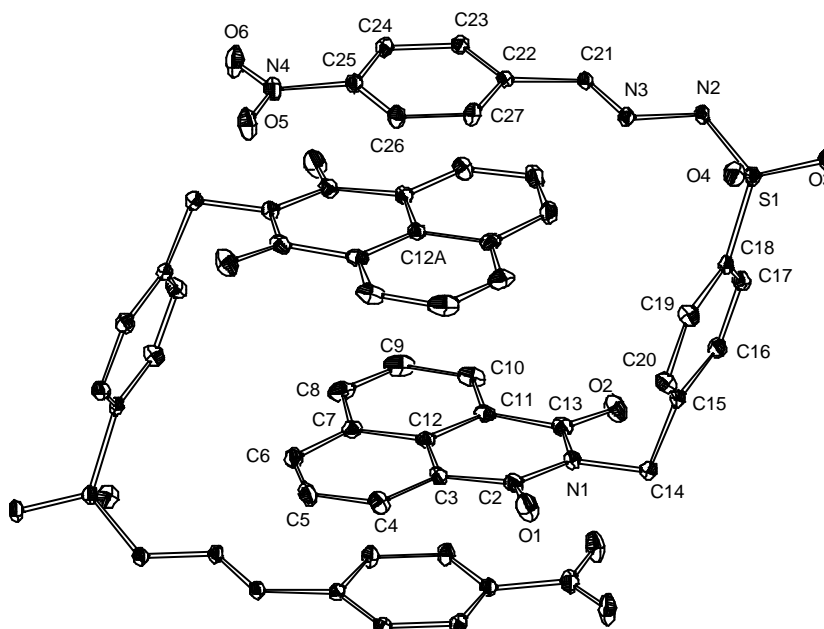


Figura 2. Visão em perspectiva da NBzNSH4NO₂, com átomos não-hidrogenóides, representados por elipsóides de 50% de probabilidade.

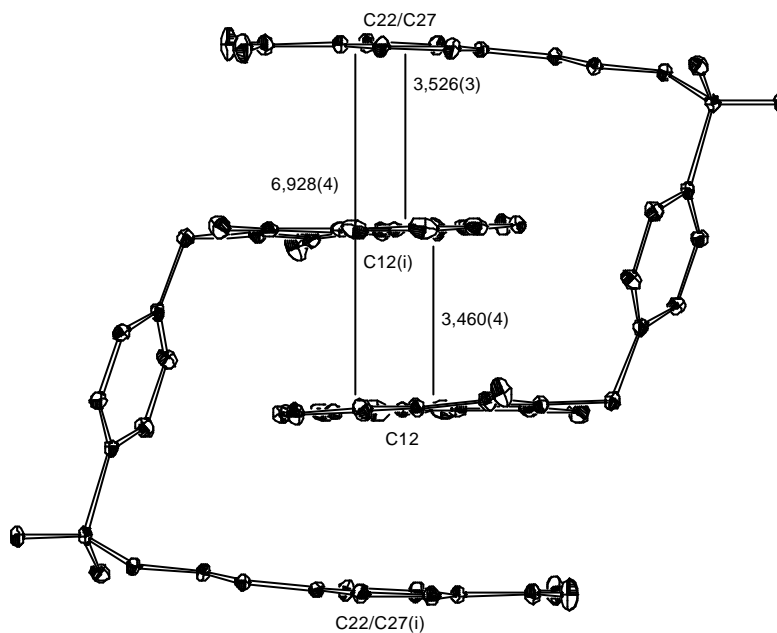


Figura 3. Distâncias em Å para os trechos selecionados.

A Figura 3 ilustra este dímero, numa perspectiva que permite a visualização da planaridade dos anéis aromáticos e as distâncias mais interessantes. Estes dímeros estão associados à uma molécula de DMSO de cristalização e esta interação é evidenciada na Figura 4.

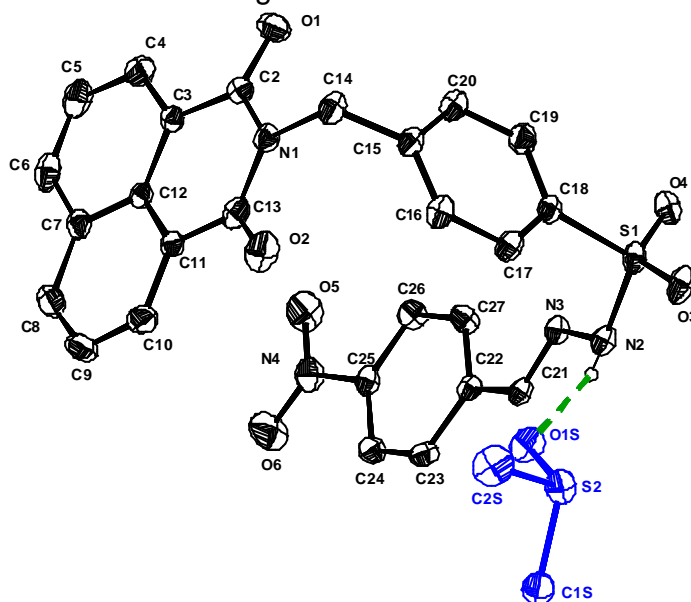


Figura 4. Ligação de hidrogênio (linha tracejada) entre a NBzNSH4NO₂ e um DMSO de cristalização.

Entretanto, não foi detectada nenhuma interação entre os hidrogênios presentes nas posições referentes aos carbonos da Figura 4, carbonos C5, C4, C9 e C10, com os hidrogênios referentes aos carbonos C23, C24, C26 e C27 no experimento de NOE (do inglês: *nuclear overhauser enhancement*).

A distância média entre estes hidrogênios na conformação fechada gerada computacionalmente em seu estado isolado, é em média de 4,72 Å. Este fato gera a ausência do efeito de NOE. Através deste processo pode-se supor, que em solução não há a existência destes dímeros, que a distância entre os hidrogênios em questão é demasiadamente grande, ou que a conformação estendida é que prevalece. A Figura 5 demonstra o composto NBzNSH4NO₂ nas conformações (calculadas) fechada e estendida.

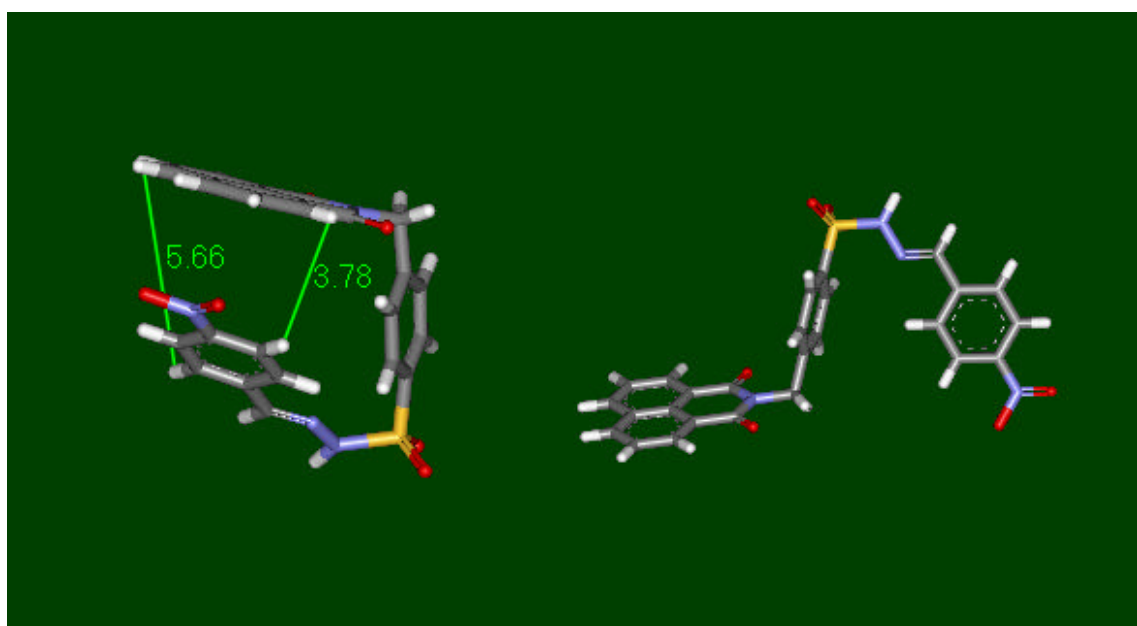
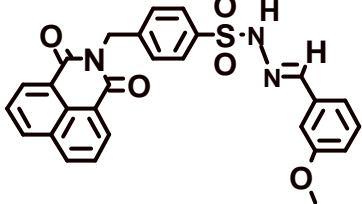
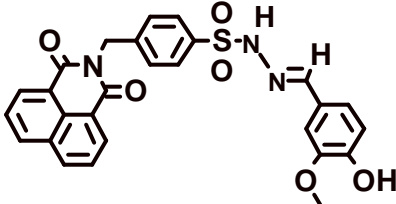


Figura 5. Duas conformações para a NBzNSH4NO₂: fechada e estendida

Um fato novo sobre a geometria da ligação imínica, em algumas das sulfonil-hidrazonas sintetizadas neste trabalho, revelou que quando o benzaldeído empregado nas sínteses possui substituintes em *m* o isômero *Z* também é formado, evidenciado por CCD e por RMN-¹H, cujos hidrogênios do fragmento originado do aldeído (3-MeO-benzilidínio e 3-OMe-4-OH-benzilidínio) e o hidrogênio -SO₂NH-,

surgem com sinais duplos porém com intensidades diferentes. A Tabela 9 demonstra os hidrogênios citados acima para os compostos em questão; NBzNSH3-OMe e NBzNSH3OMe4OH (espectros 2 e 3, respectivamente, em **OS ANEXOS**), e as proporções dos isômeros calculados pelas áreas dos sinais. Quando purificados por recristalização somente o isômero *E* é obtido, para ambos os compostos, de acordo com o espectro de RMN-¹H.

Tabela 9. Deslocamentos dos Hidrogênios numa Mistura de Diastereoisômeros.

NBzNSH3-OMe	-SO ₂ -NH-	-C=CH-	-OMe
	<i>E</i> 11,51 (70%)	7,85	3,72 (70%)
	<i>Z</i> 11,53 (30%)		3,74 (30%)
NBzNSH3-OMe,4-OH	<i>E</i> 11,20 (82%)	7,84	3,72 (82%)
	<i>Z</i> 11,22 (18%)		3,76 (18%)

Outras *SHd*, derivadas da NFF(**53**, pg.23), também com substituintes em *meta*, foram sintetizadas, mas não foram analisadas por RMN-¹H, apesar de na CCD (cromatografia em camada delgada) surgirem duas manchas de absorção com *r_f*s próximos (diferença de 0,1).

A substituição em *meta* por um substituinte relativamente volumoso deve diminuir a diferença energética dos estados de transição entre os dois isômeros, permitindo a formação do isômero *Z*.

Cálculos semi-empíricos e *ab initio*, gerados pelo Gaussian 98 para quatro pares de compostos, nas conformações fechadas (semelhantes as estruturas cristalinas) e estendidas demonstraram a diferença de calor de formação entre os isômeros *Z* e *E*, e a energia eletrônica. Os valores constituem a Tabela 10.

Tabela 10. Calores de Formação e Energia Eletrônica de Quatro Pares de *SHd*

Molécula	PM3MM (Kcal.mol ⁻¹)	HF/3-21G SP (HF)	ΔE (Kcal.mol ⁻¹) [*]
3OMe_E	-43,5998	-1958,8760706	2,722
3OMe_Z	-44,2863	-1958,8717329	
3OMe4OH_E	-86,0985	-2033,3064674	1,822
3OMe4OH_Z	-85,8584	-2033,3035637	
4NO ₂ _E	-15,0405	-2047,9088766	4,38
4NO ₂ _Z	-14,4863	-2047,9018977	
NFFSH4OMe_E	-50,6165	-1768,2362798	2,906
NFFSH4OMe_Z	-51,1875	-1768,2416482	

$$\Delta E = [E_{E(HF)} - E_{Z(HF)}].627.5095 \text{ Kcal.mol}^{-1}$$

O método semi-empírico PM3MM aponta a formação preferencial do isômero Z para dois compostos; 3OMe_Z e NFFSH4OMe_Z. De fato, o primeiro existe e foi constatado na RMN-¹H, mas, o segundo teve sua estrutura resolvida pela análise cristalográfica, e a associamos aos espectros na RMN-¹³C e RMN-¹H; onde evidencia-se apenas o isômero E. Outro composto, 3OMe4OH, é produzido formando os dois isômeros, mas os calores de formação mostram que o isômero E é o mais estável.

A energia eletrônica dos compostos foi calculada a partir das estruturas com a conformação minimizada pelo método PM3MM; utilizando um cálculo *Ba inicio* (sinale point) com a base de cálculo 3-21G. As energias são menores em todos os confôrmeros E. A maior diferença de energia é do composto 4NO₂. A diferença também é maior para o composto 3OMe ao 3OMe4OH, mas o isômero Z é formado em maior proporção no composto 3OMe (30%). É possível que a presença de substituintes eletrodoadores na posição *para* seja a responsável pela menor formação do isômero Z em 3OMe4OH, pois na configuração E o substituinte poderá dissipar seus elétrons com eficiência sobre o cromóforo sulfonil-hidrazônico.

3.3 A CINÉTICA DE HIDRÓLISE DOS CICLOS IMÍDICOS E DAS IMIDO SULFONIL - HIDRAZONAS

O mecanismo de ação biológica de ciclos imídicos pode ter relação com um ataque nucleofílico sobre as carbonilas imídicas – apesar de ser uma hipótese não experimentada. Um bionucleófilo poderá ter um maior desempenho com um substrato (fármaco) mais eletrofílico, ou que apresente uma maior reatividade.

Cinco ciclos imídicos distintos, (Figura 6), representam as classes de *SHd* sintetizadas. Elas tiveram suas cinéticas de hidrólise medidas em dois pH diferentes 1 e 7 e os dados relevantes constituem a Tabela 8, na qual constam os k_{obs} em pH 1 e 7 respectivamente, e o comprimento de onda do acompanhamento cinético.

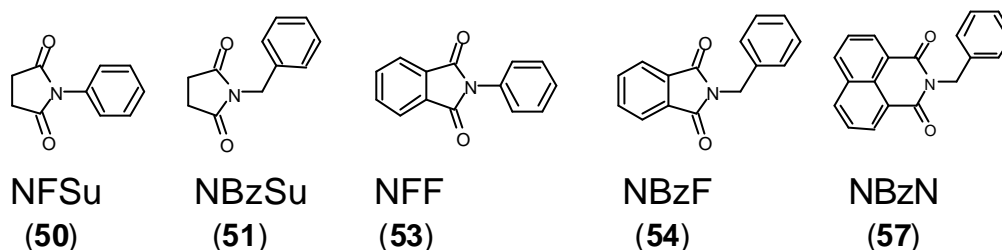


Figura 6. Ciclo imídicos avaliados em experimento cinético em pH 1 e pH 7.

Tabela 11. Ciclos Imídicos e Constantes Cinéticas De Hidrólise.

Composto	k_{obs} (pH 1)	k_{obs} (pH 7)	λ
NFSu (50)	6.82×10^{-3}		240
NBzSu (51)	6.82×10^{-3}	$8,07 \times 10^{-3}$	236
NFF (53)	$6,67 \times 10^{-3}$	$7,27 \times 10^{-3}$	234
NBzF (54)	7.05×10^{-3}	7.42×10^{-3}	236
NBzN (57)	$1,38 \times 10^{-2}$	2.70×10^{-2}	340

Os comprimentos de onda foram escolhidos por possuírem as melhores correlações da absorvância com o tempo e que apresentassem as maiores diferenças de absorvância entre o produto e o reagente de partida. O decaimento da absorvância é devido ao ataque nucleofílico da água sobre a carbonila do anel imídico com conseqüente abertura.

Os valores de k_{obs} foram determinados uma única vez, o que magnifica o erro sobre a exatidão deste valor, e que é gerado principalmente devido as variações das massas pesadas e diluições durante o preparo das soluções estoque e do preparo das soluções cinéticas. Desta feita, não há fundamentação experimental para se descrever e propor uma ordem de reatividade de hidrólise destas moléculas e que além de tudo, são muito próximas em sua maioria. No entanto é válido ressaltar que o composto NBzN (**57**), foi o composto mais reativo.

Nesta molécula ocorre a formação de dois pontos isobésticos, em 310 e 367 nm, que correspondem ao decaimento da absorção do fragmento naftalênico, tanto em pH 1 como em pH 7 (Espectro 4 e 5 em **OS ANEXOS**). A presença destes pontos indica a existência de um equilíbrio e o processo de formação do ácido naftalâmico é reversível.

Em nosso grupo de pesquisa, os derivados naftalimídicos, representam as moléculas que possuem as maiores atividades antinociceptivas (ver introdução, página 10-11). Foi demonstrado nestas cinéticas preliminares que a NBzN(**57**) foi o composto com maior velocidade de hidrólise.

Este fato, esta indicando a importância de se conduzir um estudo cinético aprofundado.

Este estudo trará uma maior compreensão sobre as interações dessas moléculas em seu receptor biológico e ou, poderá ser utilizado para um enquadramento farmacocinético das imidas cíclicas.

As cinco sulfonil-hidrazonas (Figura 7) correlatas aos ciclos imídicos tiveram suas constantes cinéticas de hidrólise medidas em pH 1 e 7.

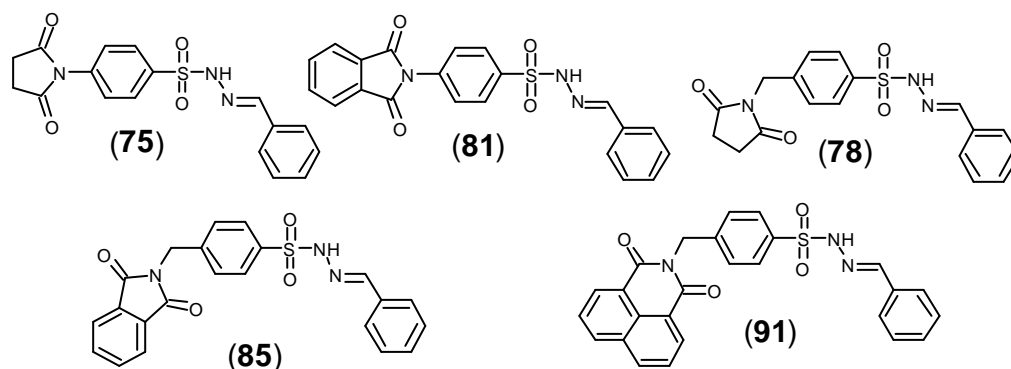


Figura 7. Sulfonil-hidrazonas avaliadas na cinética de hidrólise.

O mecanismo de ação biológica na atividade antitumoral e antiviral foi postulado por inibir a biosíntese de ADN e ARN¹⁸ pela incorporação de [³H]-timidina e [³H]-uridina, respectivamente. A reação se dá pela abstração do hidrogênio sulfonil-hidrazônico e conseqüente ataque nucleofílico sobre o carbono aldoimínico (Introdução, Esquema II, pg.17)¹⁹.

Com relação aos ciclos, a reação sobre o cromóforo sulfonil-hidrazônico é cerca de 10 vezes mais lenta que a hidrólise do ciclo, quando se compara os valores de k_{obs} das hidrólises. No entanto, pode-se imaginar que o anel imídico deve sofrer hidrólise simultaneamente – porém sua extensão não foi determinada.

A cinética é acompanhada pelo decaimento da banda referente ao cromóforo, que possivelmente deve-se à protonação do cromóforo. Existe a formação de um ponto isobéstico em torno de 255 nm em pH 1, nas três SHd iniciais, indicando uma reversibilidade na hidrólise da imina, e de forma sutil na última sulfonil-hidrazona [Espectro 5, para a NFSuSHONA (75), em ANEXOS]. Nesta, surpreendentemente, não ocorre o decaimento da absorvância, e sim o aumento com um leve deslocamento batocrômico.

Posteriormente, verificou-se que a amostra já estava parcialmente hidrolizada e observou-se, neste momento, a formação da SHd. A Tabela 12 demonstra os dados relevantes do experimento.

Tabela 12. SHd e Constantes Cinéticas de Hidrólise.

Composto	k_{obs} (pH 1)	k_{obs} (pH 7)	λ
NFSuSHONA (75)	$8,88 \times 10^{-4}$	$1,46 \times 10^{-3}$	270
NBzSuHONA (78)	$9,66 \times 10^{-4}$		280
NFFSHONA (81)	$9,32 \times 10^{-4}$	$2,37 \times 10^{-4}$	270
NBzFSHONA (85)	$1,30 \times 10^{-3}$		280
NBzNSHONA (91)	$2,08 \times 10^{-2}$	$1,14 \times 10^{-2}$	280

Estas cinéticas não foram realizadas com o intuito de obter informações mecanísticas sobre a hidrólise. Elas devem ser consideradas por preverem que essas moléculas devem sofrer hidrólise em meio biológico ou mesmo em testes *in*

vitro. No entanto, foi impossível quantificar a extensão desta hidrólise nestes ambientes.

4 OS RESULTADOS BIOLÓGICOS

4.1 A VIABILIDADE CELULAR

As doze sulfonil-hidrazonas, Figura 8, foram incubadas em um meio de cultura de hepatócitos de ratos (células de fígado). A escolha deste tecido deve-se ao fato da maioria dos fármacos serem absorvidos por ele rapidamente após a administração oral, ou aplicação intravenosa. Desta maneira, um candidato a agente terapêutico pode promover um impacto desfavorável sobre este órgão, mas um teste de viabilidade celular pode alertar sobre sua toxicidade.

A Tabela 13 demonstra o percentual de viabilidade celular (PVC) e erro padrão. As concentrações foram de 100 μ molar.

Tabela 13. Percentual De Viabilidade Celular (PVC), Erro Padrão (EP) Das Sulfonil-Hidrazonas (S Hd).

SHd	98	99	100	101	102	103
PVC	84,5	95,5	88,5	93	96,5	96,5
EP	12,37	6,01	3,89	17,32	12,02	7,78
SHd	104	105	106	107	108	109
PVC	98,5	78,5	79	103,5	74,5	95,5
EP	16,26	6,36	7,07	22,63	17,32	10,08

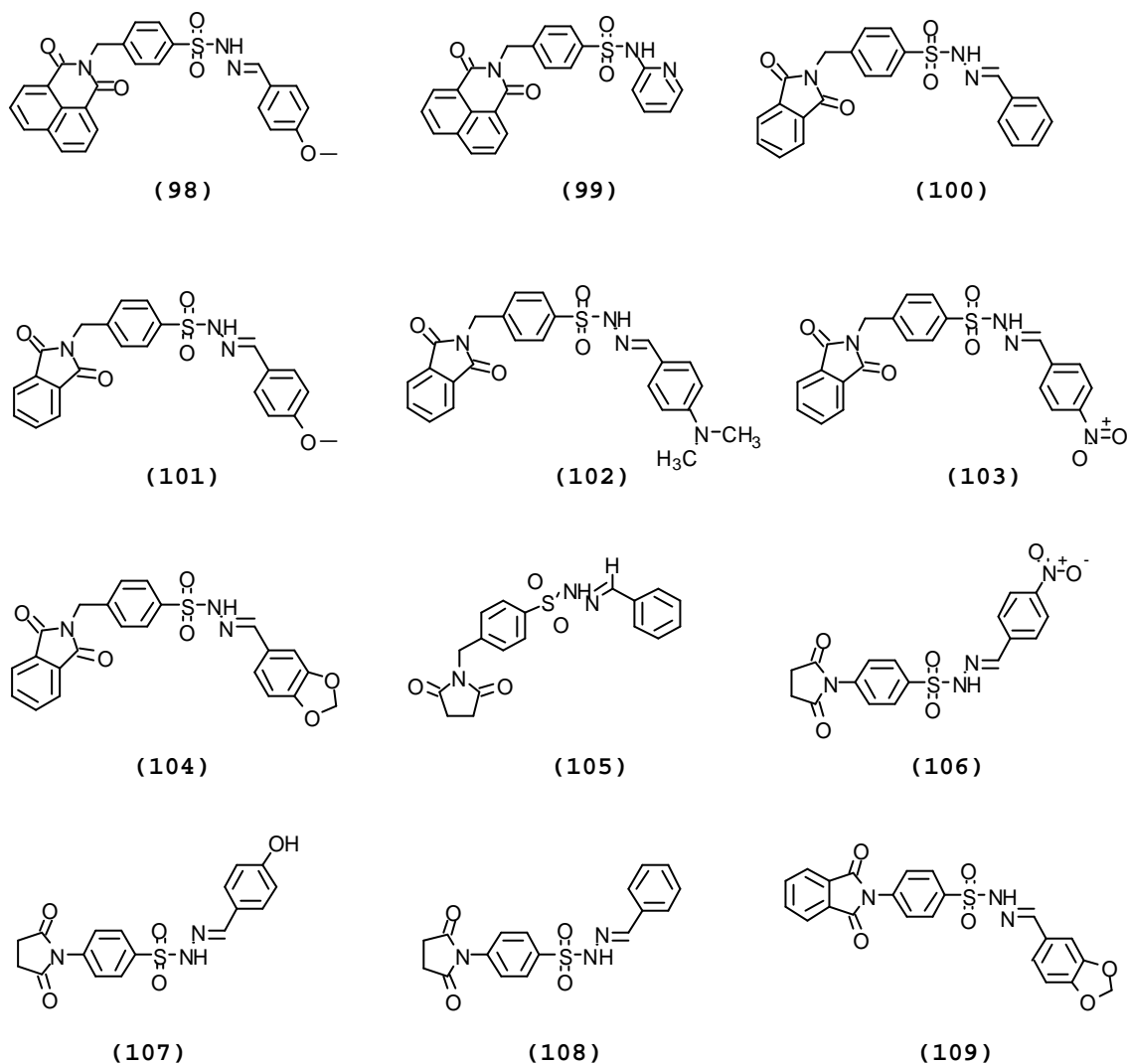


Figura 8. As sulfonil-hidrazonas avaliadas na viabilidade celular de hepatócitos de ratos.

A

As moléculas, testadas neste ensaio, demonstraram não interferir de maneira a inviabilizar a respiração dos hepatócitos, uma vez que os valores da PVC estão no patamar dos 80%. Elas, possivelmente, foram metabolizadas e seus metabólitos também são atóxicos. É provável que, durante os experimentos, parte das sulfonil-hidrazonas sofreram hidrólise e, desta forma, as sulfonil-hidrazidas e os ácidos também possam ser considerados atóxicos sobre estas células.

4.2 A INIBIÇÃO DAS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) E DA MIELOPEROXIDASE, E DA PROTEÇÃO CONTRA A LIPOPEROXIDAÇÃO

Durante as pesquisas buscamos realizar as observações sobre a inativação destas enzimas pela relação que elas têm com doenças inflamatórias crônicas, como a isquemia e artrite reumatóide³³. A NOS é utilizada pelos fagócitos para oxidar, com o óxido nítrico, antígenos. O óxido nítrico é sintetizado e secretado por um grande número de células mamíferas e em pequenas doses, é benéfica para o ser humano. A mieloperoxidase, presente em neutrófilos ativados, tem como principal função neutralizar antígenos, eliminando infecções e inflamações. No entanto, disfunções surgem pela sua atividade exacerbada, causando várias doenças inflamatórias, como a artrite reumatóide, a síndrome de sofrimento respiratório de adultos, a esclerose múltipla, a fibrose cística e a injúria de pulmão neonatal. Ela também tem sido observada pela sua capacidade de oxidar lipoproteínas de baixa densidade na aterosclerose e por promover a leucemia mielóide aguda.³⁵ A Tabela 14 mostra os resultados com percentuais de inibição. As concentrações utilizadas foram de 100 μ mol.

Tabela 14. Porcentagem de inibição enzimática e lipoproteção.

SHd	% Óxido Nítrico Sintase	% Mieloperoxidase	% Proteção na Lipoperoxidação
98	14	0	0
99	100	34	1
100	49	51	20
101	nd	0	14
102	0	52	79
103	nd	0	12
104	18	0	33
105	25	20	23
106	nd	20	37
107	0	68	31
108	38	14	26
109	66	11	27

nd. não determinado

A inativação da NOS é moderada quando a sulfonil-hidrazona não é substituída, ou como no caso de (109), o substituinte for o 3,4-dioximetileno, que possui seus orbitais ocupando o espaço nesta região de forma rígida. No seu homólogo, N-benzilftalimida, a inativação é menor, possivelmente por possuir uma conformação que reduz a sua aproximação no sítio ativo. Os compostos com substituição em *para* possuem atividades nulas, ou não determinadas, com exceção do composto (98), que possui uma atividade reduzida. Provavelmente, esta redução acontece pelos mesmos motivos conformacionais. A sulfonamida heterocíclica (99) destaca-se por inibir a atividade enzimática, possivelmente por ser a sulfonamida um fragmento mais compacto em relação a sulfonil-hidrazona e por receber ligação de hidrogênio. É conveniente que esta molécula possa ser empregada como modelo para futuras explorações farmacológicas.

Na atividade da mieloperoxidase os compostos mais ativos são os análogos da N-benzilftalimida, substituído pelo grupo 4-N,N-diMe (102) e não substituído indicando que os fatores eletrônicos da molécula não provocam alterações marcantes na inativação enzimática. O composto (107) também produz uma inativação satisfatória, possivelmente por estabelecer a ligação entre o hidrogênio e a enzima. A sulfonamida tem atuação reduzida neste experimento quando é comparada à inativação da NOS. Isto possivelmente ocorre pelas dimensões distintas dos sítios ativos dessas enzimas. O volume molecular parece influenciar na atividade inibitória, demonstrando que o composto (98) é inativo provavelmente por ser o mais volumoso. As informações moleculares que podem ser utilizadas para se interpretar os valores da inativação enzimática (em ambas as enzimas) são incompletas pelo pequeno número de compostos testados. No entanto, uma hipótese pode ser levantada: as moléculas podem estar atuando em posições distintas das enzimas.

Outro detalhe molecular importante deve ser considerado: estas moléculas podem estar hidrolizando durante os experimentos. Este fenômeno deve refletir nas porcentagens de inibição, reduzindo-as. As sulfonil-hidrazidas podem não estar atuando sobre essas enzimas, pois não há similaridades no percentual de inibição

entre os homólogos, indicando que a sulfonil-hidrazona, como um todo (principalmente o volume molar), provoca a inibição, pois a substituição benzilidênica provoca alterações nas leituras.

A lipoperoxidação foi realizada em microssomas de fígado de ratos e o radical gerado foi o ascorbila. A geração foi induzida por sulfato ferroso. A citoproteção realizada pelos compostos foi moderada, no entanto, indica o composto **(102)** como um eficiente seqüestrador, devido à grande densidade eletrônica presente sobre o cromóforo sulfonil-hidrazônico. Uma segunda natureza eletrônica, produz os efeitos moderados, está presente nos compostos **(104)**, **(106)**, **(107)** e **(109)**. Esses compostos contêm grupos antagônicos no quesito densidade eletrônica. O derivado **(106)** pode estar atuando como agente redutor, pois os demais compostos possivelmente estão doando um elétron para o radical ascorbila. O homólogo do composto **(106)**, composto **(103)**, possui uma capacidade inferior.

5 AS CONCLUSÕES

As sínteses das sulfonil-hidrazonas realizam-se de forma linear a partir dos anidridos cíclicos e a configuração da ligação aldolímica apresenta-se na forma *E* de acordo com as análises cristalográficas. Evidências analíticas demonstraram a formação do isômero *Z* a partir de benzaldeído substituídos em *meta*. Sua formação é, possivelmente, dependente de outros substituintes no anel.

Demonstrou-se que tanto os anéis imídicos como as sulfonil-hidrazonas sofrem hidrólise em pH 1 e pH 7. É possível que essas hidrólises possam estar ocorrendo durante as inativações enzimáticas e na citoproteção contra radicais ascorbila. A sulfonamida **99** possui dimensões e arquitetura molecular que podem projetá-la à molécula-protótipo para futuras modificações estruturais e auxiliar no desenvolvimento de inativadores adequados da NOS.

Os testes sobre a inativação da mieloperoxidase não permitiram eleger uma molécula modelo; possivelmente ligações de hidrogênios e os volumes molares das moléculas testadas estão influenciando os resultados.

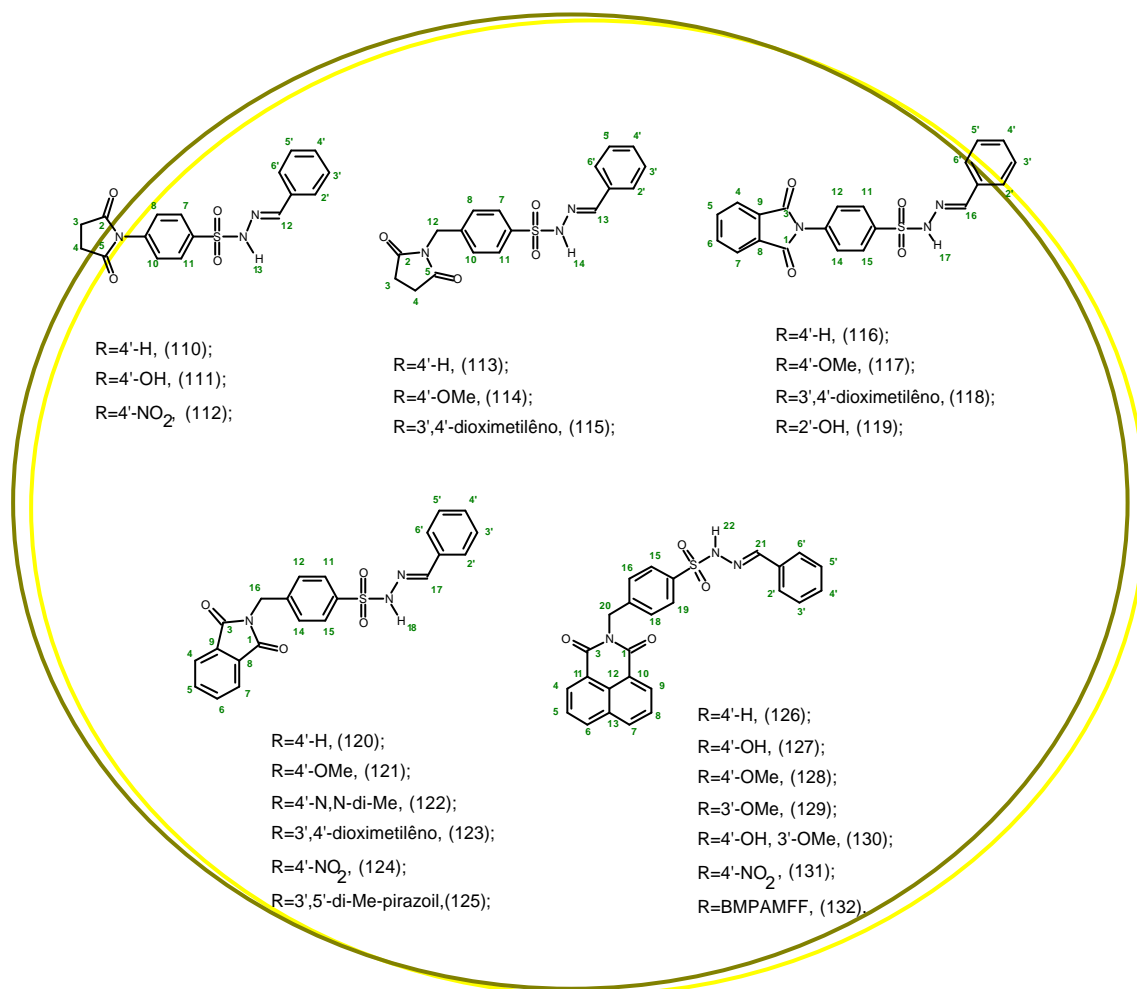
Contra a lipoperoxidação os compostos com densidade eletrônica alta podem sofrer reações de oxidação frente ao radical ascorbila. Provavelmente alguns dos compostos formem complexos de inclusão com os lipossomas

6. A SECÇÃO EXPERIMENTAL

6.1 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E REAGENTES

- ? Pontos de fusão: aparelho Microquímica MQRPF-301.
- ? Espectros de infra-vermelho: espectrofotômetro Perkin Elmer-FT16 PC.
- ? Espectros de RMN ^1H e ^{13}C : aparelho RMN Brucker AC 200F a 200 e 50 MHz respectivamente.
- ? Espectros de ultravioleta: aparelho Hewlett Packard-HP 8453.
- ? Os reagentes foram adquiridos das companhias: Merck, Aldrich, Carlo Erba e Vetec.
- ? As estruturas foram otimizadas pelos métodos PM3MM, para comparação dos valores de calor de formação dos isômeros. Para obtenção de um valor mais acurado da energia dos confôrmeros, procedeu-se um cálculo single-point com o método *ab initio* HF/3-21G, empregando as estruturas obtidas pelo método PM3MM. Foi utilizada a base 3-21G devido ao tamanho dos sistemas estudados e os valores de energia obtidos pelo método Hartree-Fock são referentes somente a energia eletrônica. Todos os cálculos foram feitos com auxílio do programa Gaussian 98, instalado no cluster Compaq do LCCA/USP.
- ? Os modelos moleculares* das sulfonil-hidrazonas foram gerados em uma cópia de exibição do programa Hyper Chem 6.0 da Hypercube Inc., sendo suas energias minimizadas pelo campo de força MM+ – sem nenhuma restrição – e com o algoritmo Fletcher-Reeves. A visualização foi elaborada através do Programa WebLab ViewerPro 4 Preview da Molecular Simulation Inc.

O esquema abaixo demonstra a numeração utilizada para a correta atribuição dos hidrogênios e dos carbonos nas *SHd* sintetizadas neste trabalho. As multiplicidades são representadas por: s (singlete), m (multipeto), dd (duplo dubleto).



Esquema XIII-numeração utilizadas nas análises espectroscópicas.

* Não sabemos qual poderia ser a conformação ou as conformações mais adequadas para a visualização tridimensional das moléculas em estudo e relacioná-las com a atividade biológica. Por isso alertamos aos leitores, que a visualização tridimensional exposta nesta secção pode ser

considerada provisória – são modelos intuitivos que demonstram alguma possibilidade conformacional e geométrica.

Nas tabelas 15 e 16 constam os dados relevantes à análise cristalográfica.

Tabela 15. Dados cristalinos e refinamentos estruturais da NFFSH4OMe.

Formula empírica	$C_{22}H_{17}N_3O_5S$	F(000)	904
Peso molecular	435,45 g mol ⁻¹	Dimensões do cristal (mm)	0,47x0,26x0,10
			Amarelo
		Faixa de índices	-13<=h<=13, -19<=k<=0, -13<=l<=0
Sistema cristalino	Monoclínico p2 ₁ /c	Reflexões únicas	3689, [R _{int} =0,0137]
Dimensões	a=11,354(2) Å b=16,082(3) Å c=11,381(2) Å	Matriz completa em F ² Goodness-of-fit on F ² Índice final	1,007 R _w =0,0368, [I>2σ(I)]
V	2013,3(6) Å ³	Coeficiente de extinção	4,4(5)x10 ⁻³
Z	4		
D _x	1,437 g.cm ⁻³		
?	0,202 mm ⁻¹		
T	2,24-25,07°		
? (Mo-K _α)	0,71073 Å		
T	293(2) K		

Tabela 16. Dados cristalino e refinamentos estruturais da NBzNSH4NO₂.

Formula empírica	C ₂₈ H ₂₄ N ₄ O ₇ S ₂	F(000)	616
Peso molecular	592,63 g mol ⁻¹	Dimensões do cristal (mm)	0,50x0,16x0,13
			Amarelo
		Faixa de índices	-0<=h<=10, -14<=k<=14, -16<=l<=16
Sistema cristalino	Triclínico P-1	Reflexões únicas	4737 [R _{int} =0,0166]
Dimensões	a=9,152(1) Å b=11,971(1) Å c=13,910(1) Å α=107,27(1)° β=104,35(3)° γ=96,32(1)°	Reflexões coletadas Refinamento em F ² Goodness-of-fit on F ² Índice final Coeficiente de extinção	5055 1,037 R _w =0,0521 1,6(16)x10 ⁻³
V	1400,6(2) Å ³		
Z	2		
D _x	1,405 g.cm ⁻³		
?	0,244 mm ⁻¹		
T	2,31-25,07°		
?	0,71073 Å		
T	293(2) K		

6.2 A SÍNTESE DOS CICLOS IMÍDICOS (CI)

6.2.1 A Síntese dos homólogos succinimídicos: 1-aryl e alquilaril-pirrolidina-2,5-diona

Em um erlenmeyer de 125 mL dissolve-se o anidrido succínico com 60 mL de éter. Com a solução em banho de gelo/água e posterior agitação adiciona-se lentamente a amina e após agitar por 30 minutos, despeja-se a mistura reacional em 100 mL de hexano e coleta-se o ácido fenil-succinâmico por filtração. Em um erlemeyer de 50 mL, contendo $O(AcO)_2$ (4x mols) e $AcONa$ (2x mols), adiciona-se o ácido fenil-succinâmico (1x mol) e ajeita-se o frasco a um banho de 100° C por 2 horas. Esfria-se a mistura e despeja-se o conteúdo sobre água/gelo (100 mL) e cristaliza-se a imida com EtOH.

Massa do anidrido	Homólogo	<i>p.f.</i> : °C	<i>p.f.</i> : °C	Rendimento
5 g	NFSu (50)	156,4-156,7	156-157	60 %
5 g	NBzSu (51)	100-101		70 %
2 g	NFeSu (52)	134-135		

Obtidos na Literatura

6.2.2 A Síntese dos homólogos ftalimídicos: 2-aryl e alquilaril-1H-isoindol-1,3(2H)-diona

A um balão de 125 mL, equipado com um condensador para refluxo contendo 60 mL de ácido acético glacial, adiciona-se o anidrido ftálico (1x mol) e a amina correspondente (1x mol) e leva-se à temperatura de refluxo. Mantém-se o sistema em refluxo por 2 horas. Posteriormente resfria-se a solução reacional e despeja-se o conteúdo em um erlenmeyer de 500 mL, que contém água/gelo (300 mL) e agita-se bem. No fim do processo a imida é coletada por filtração e recristalizada com EtOH.

Massa do anidrido	Homólogo	p.f.: °C	p.f.: °C	Rendimento
8 g	NFF (53)	209,5-209,6	207-208	91 %
5 g	NBzF (54)	117		96 %
2 g	NFeF (55)	131-132		70 %

Obtidos na Literatura

6.2.3 A Síntese dos homólogos naftalimídicos: 2-fenil, benzil e feniletil- 6-X-1H-benzo[de]isoquinolina-1,3(2H)-diona

A um balão de 125 mL, equipado com um condensador para refluxo, contendo 80 mL de etanol, adiciona-se o anidrido naftálico (X=H), ou 6-Cl-naftálico (X=Cl) (1,1 mol) e leva-se à temperatura de refluxo. Adiciona-se a amina (1,1 mol) correspondente e mantém-se o sistema em refluxo por 2 horas. Resfria-se a solução reacional e coleta-se os cristais (X=H), ou despeja-se o conteúdo (X=Cl) em um erlenmeyer de 500 mL contendo água/gelo (200 mL) e recristaliza-se com AcOEt/EtOH (3:1).

Massa do anidrido	Homólogo	p.f.: °C ¹	p.f.: °C	Rendimento
X=H (1g)	NFN (56)	183,3- 183,6		80 %
X=H, (3 g)	NBzN (57)	197,5-198,2		96 %
X=H, (2 g)	NFeN (58)	131-132		74 %
X=Cl, (1 g)	6-Cl-NBzN (59)	147		90 %

Obtidos na Literatura

6.3 A SÍNTESE DOS CLORETOS DE CICLO IMÍDO-ARIL-SULFONILA (ClArSO₂Cl)

6.3.1 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo succinimídico: cloreto de 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il), metil e etil]-benzil-sulfonila

A um erlenmeyer de 50 mL contendo a succinimida (1x mol) adiciona-se o ácido clorossulfônico (6x mol) lentamente, tampa-se o erlenmeyer acondicionando-o ao banho quente. Mantém-se o sistema com o aquecimento por tempo necessário ao consumo da imida. Após resfriar o erlen, despeja-se o sobre 200 mL de água/gelo e coleta-se o sólido por filtração a vácuo, lavando-o com água fria.

Massa da imida	Temp.(°C)	Tempo (min.)	p.f.: °C	p.f.: °C	Rendimento
NFSu-(1,50 g)	75	40	192,9-194,1	192-194	62
NBzSu-(0,90 g)	90	20	147,3-147,8		85

Obtidos na Literatura

6.3.2 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo ftalimídico: cloretos de 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il), metil e etil]-benzil-sulfonila

O procedimento utilizado para sintetizar estes cloretos é idêntico ao das succinimidas feito através do banho de aquecimento a 90°C. O cloreto da N-benzilftalimida é obtido extraíndo-o por meio do éter (3X60 mL) e tratamento usual da fase etérea.

Massa da ftalimida	Tempo (min.)	p.f.: °C	p.f.: °C	Rendimento
NFF-(5 g)	120	238-239	235-237	90%
NBzF-(4 g)	5	118,2-118,9		85%
NFeF-(2 g)	5	157		90%

Obtidos na Literatura

6.3.3 A Síntese dos cloretos dos homólogos de núcleo naftalimídico: cloretos de 4-[(6-X-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il), metil e etil]-Benzil-sulfonila

O procedimento de preparação destas sínteses é idêntico ao das succinimidas.

Massa da Naftalimida	Tempo (min)	p.f.: (°C)	p.f.: (°C)*	Rendimento
NFN-(0,55 g)	240	170		65%
NBzN-(2 g)	c	154		97%
NFeN-(2 g)	5	262		80%
6-Cl-NBzN-(2 g)	5	147		quantitativo

Obtidos na Literatura

6.4 A SÍNTESE DAS CICLO IMIDO-ARIL-SULFONIL -HIDRAZIDA (CIArSH)

6.4.1 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos succinimídicos: 4-[(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida

A uma suspensão do cloreto de sulfonila (1 mol), em metanol (20-50 mL), a 0°C adiciona-se o hidrato de hidrazina 55% (2 mol) lentamente durante 15 minutos. Após a confirmação do consumo do cloreto por CCD, reduz-se o volume do solvente no evaporador rotatório e despeja-se o conteúdo remanescente sobre água/gelo (50-80 mL). Por fim, coleta-se a sulfonil-hidrazida por filtração, lavando-a com água fria.

Massa do Cloreto	p.f.: (°C)	p.f.: (°C)*	Rendimento
NFSuSO₂Cl (1,5 g)	163,7- 164,2		80 (%)
NbzSuSO₂Cl (1,5 g)	174,7- 175,2		90 (%)

Obtidos na Literatura

6.4.2 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos ftalimídicos: 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida

A seqüência do procedimento para obter essas sínteses foi similar ao descrito para as succinimido sulfonil-hidrazida.

Massa do Cloreto	<i>p.f.:</i> (°C)	<i>p.f.:</i> (°C) [*]	Rendimento
NFFSO ₂ Cl (2 g)	170,3-171,4	171-172	85 %
NBzFSO ₂ Cl (3 g)	160,2-161,4		85 %

^{*} Obtidos na Literatura

6.4.3 A Síntese das sulfonil-hidrazidas homólogas dos núcleos naftalimídicos: 4-[(6-X-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il), metil e etil]-benzilsulfonil-hidrazida

Outra vez, o procedimento aplicado para as sínteses assemelha-se ao descrito para as succinimido sulfonil-hidrazida.

Massa do Cloreto	<i>p.f.:</i> (°C)	<i>p.f.:</i> (°C) [*]	Rendimento
NBzNSO ₂ Cl-(2 g)	165		90%
N-FeNSO ₂ Cl-(2 g)	195		70%

^{*} Obtidos na Literatura

6.5 A SÍNTESE DOS CICLO IMIDO-ARIL-SULFONIL-HIDRAZONAS (ICArSHd)

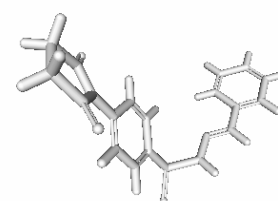
6.5.1 A Síntese das sulfonil-hidrazonas

A um erlenmeyer de 50 mL contendo o aldeído (1,1x mol), solubilizado em EtOH e HCl_{conc} em quantidades catalíticas, adiciona-se a SH (1x mol) e agita-se a

emulsão por tempo adequado. O volume da reação é reduzido no evaporador rotatório e o conteúdo é despejado em 100 mL de água fria. Coleta-se a sulfonil-hidrazona por filtração e procede-se a sua recristalização através de uma mistura de solventes.

6.5.1.1 As propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (110).

p.f.: 156,2-156,8 °C (EtOH)



Rendimento: 75% a partir de 300mg de NFSuSH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3226 (ν NH), 1778 e 1704 [ν N(C=O)₂], 1388 e 1178 (ν -SO₂ -), 1500 (ν C=N).

Análise Elementar:

Calculado(%): C57,12, H4,23, N11,76, S8,97.

Encontrado(%): C57,51, H4,28, N11,97, S8,88

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

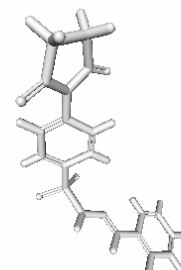
11,62 (s, 1H, 13-H), 8,02-7,98 (d, 2H, 7 e 11-H, ³*J*_{7,8;11,10}=8,11Hz), 7,94 (s, 1H, 12-H), 7,56-7,51 (m, 4H, 8, 10, 2', e 6',-H), 7,39 (m, 3H, 3',4' e 5'-H), 2,78 (s, 4H, 3 e 4-H).

RMN-¹³C, δ (ppm):

176,70 (C2 e C5), 147,77(C12), 138,31(C9), 136,67(C6), 133,58(C1'), 130,33(C4'), 128,92(C2', C6'), 128,00(C3', C5'), 127,74(C7 e C11), 126,97(C8, e C10), 28,59 (C3, C4).

6.5.1.2 As Propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-(4-hidroxifenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**111**).

p.f.: 230°C, decomposição.



Rendimento: 80% a partir de 180 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3196 (ν NH), 1772 e 1686 [ν N(C=O)₂], 1412 e 1182 (ν -SO₂ -), 1518 (ν C=N).

Análise Elementar:

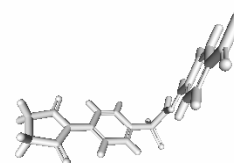
Calculado(%): C54,68, H4,05, N11,25, S8,59.

Encontrado(%): C53,21, H3,97, N10,74, S8,07.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 11,31 (s, 1H, 13-H), 9,9(s, sl, 1H, 4'-OH), 8,00-7,96 (d, 2H, 7 e 11-H, ³*J*_{7,8;11,10}= 8,00 Hz), 7,84(s, 1H, 12-H), 7,55-7,51 (d, 2H, 8 e 10-H, ³*J*_{8,7;10,11}=8.00Hz), 7,43 –7,39 (d, 2H, 2', e 6'-H, ³*J*_{2',3';6',5'}= 8,52 Hz), 6,79-6,74 (d, 2H, 3' e 5'-H, ³*J*_{3',2';5,6}= 8,52 Hz) 2,78 (s, 4H, 3 e 4-H).

6.5.1.3 As Propriedades moleculares da 4-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-N'-[(1E)-(4-nitrofenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**112**).

p.f.: 207°C, decomposição.



Rendimento: 70% a partir de 150 mg de SH.

$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3126 (ν NH), 1778 e 1710 [ν N(C=O)₂], 1390 e 1178 (ν -SO₂ -), 1522 (ν C=N).

Análise Elementar.

Calculado(%): 50,74 H3,66, N13,42, S7,97.

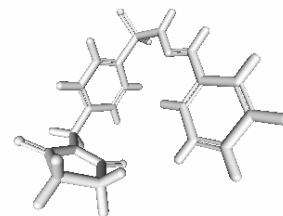
Encontrado(%): C48,63, H3,66, N13,40, S8,11

$RMN-^1H$, δ (ppm, DMSO- d^6):

(s, 1H-13-H), 8,26-8,22 (d, 2H, 3' e 5'-H, $^3J_{3',2';5',6'}=8,00$ Hz), 8,06 (s, 1H, 12-H), 8,04-8,00 (d, 2H, 7 e 11-H, $^3J_{7,8;11,10}=8,00$ Hz), 7,87-7,83, (d, 2H, 2' e 6'-H, $^3J_{2',3';6',5'}=8,00$ Hz), 7,57-7,53 (d, 2H, 8, e 10-H, $^3J_{8,7;10,11}=8,00$ Hz) 2,78 (s, 4H, 3 e 4-H).

6.5.1.4 As propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzossulfonil-hidrazida, (**113**).

p.f.: 200°C, decomposição. EtOH/AcOEt (2:1)



Rendimento: 60% a partir de 300 mg de SH.

$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3160 (ν NH), 1768 e 1700 [ν N(C=O)₂], 1396 e 1162 (ν -SO₂ -), 1494 (ν C=N).

Análise Elementar.

Calculado(%): C58,21, H4,61, N11,13, S8,63.

Encontrado(%): C53,9, H4,68, N12,14, S8,30.

$RMN-^1H$, δ (ppm, DMSO- d^6):

11,57 (s, 1H, 14-H), 7,84(s, 1H, 13-H), 7,84-8,00 (d, 2H, 7 e 11-H, $^3J_{7,8;11,10}=8,00$ Hz), 7,53 (m, 2H, 2' e 6'-H), 7,49-7,45(d, 2H, 8 e 10-H, $^3J_{8,7;10,11}=8,00$ Hz), 7,41 –7,38 (m, 3H, 3', 4' e 5'-H), 4,60 (s, 2H, 12-H), 2,69 (s, 4H, 3 e 4-H).

6.5.1.5 As Propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-(4-metoxi-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**114**).

p.f.: 184°C, decomposição. EtOH/AcOEt (2:1)

Rendimento: 70% a partir de 300 mg de SH.

IV(KBr)ν_{Máx}: 3180 (ν NH), 1768 e 1700 [ν N(C=O)₂], 1340 e 1162 (ν -SO₂ -), 1514 (ν C=N), 1254 (ν Ar-O-CH₃).

Análise Elementar:

Calculado(%): C56,85, H4,77, N10,47, S7,99.

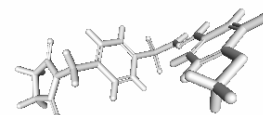
Encontrado(%): C57,2, H4,87, N10,64, S7,42.

RMN-¹H, δ(ppm, DMSO-*d*⁶):

11,33 (s, 1H, 14-H), 7,85(s, 1H, 13-H), 7,83-7,79 (d, 2H, 7 e 11-H, ³*J*_{7,8;11,10}= 8,00 Hz), 7,52-7,48 (d, 2H, 2' e 6'-H), 7,49-7,45(d, 2H, 8 e 10-H, ³*J*_{8,7;10,11}=8.00Hz), 6,96-6,92 (d, 2H, 3' e 5'-H), 4,60 (s, 2H, 12-H), 2,68 (s, 4H, 3 e 4-H).

6.5.1.6 As Propriedades moleculares da 4-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)-metil]-N'-[(1E)-(3',4'-dioximetileno-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**115**).

p.f.: 200°C, decomposição. EtOH/AcOEt (2:1)



Rendimento: 75% a partir de 300 mg de SH.

$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3156 (ν NH), 1768 e 1702 [ν N(C=O)₂], 1396 e 1164 (ν -SO₂ -), 1560 (ν C=N), 1258 (ν Ar-O-CH₂-O-Ar).

Análise Elementar.

Calculado(%): C56,85, H4,77, N10,47, S7,99.

Encontrado(%): C57,2, H4,87, N10,64, S7,42.

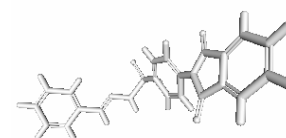
$RMN-^1H$, δ (ppm, CDCl₃):

7,94-7,90 (d, 2H, 7 e 11-H, $^3J_{7,8;11,10}$ = 8,00 Hz), 7,66 (s, 1H, 14-H, lábil em D₂O), 7,55-7,51 (d, 2H, 8 e 10-H, $^3J_{8,7;10,11}$ = 8,00 Hz), 7,26 (s, 1H, 13-H), 7,22 (s, 1H, 6'-H), 6,95-6,91 (d, 1H, 2'-H, $^3J_{2',3'}$), 6,79-6,75 (d, 1H, 3'-H, $^3J_{3',2'}$ = 8,00 Hz), 6,00 (s, 2H, 3' e 4'-Ar-O-CH₂-O-Ar -H), 4,70 (s, 2H, 12-H), 2,74 (s, 4H, 4 e 5-H).

6.5.1.7 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**116**).

$p.f.$: 204,6- 204,8 °C EtOH/AcOEt (2:1).

$p.f.$: (literatura⁴³) 196-197 °C.



Rendimento: 80% a partir de 150 mg de SH.

$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3136 (ν NH), 1780 e 1740 [ν N(C=O)₂], 1376 e 1168 (ν -SO₂ -), 1492 (ν C=N).

Análise Elementar.

Calculado(%): C63,21, H3,73, N10,36, S7,91.

Encontrado(%): C62,24, H3,73, N10,30, S7,57.

$RMN-^1H$, δ (ppm, CDCl₃):

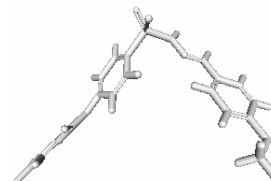
8,16-8,12 (d, 2H, 11 e 15-H, $^3J_{11,12;15,14}$ = 8,00 Hz), 7,83 (s, 1H, 17-H, lábil em D₂O), 8,16-8,12 (d, 2-H, 12 e 14-H, $^3J_{12,11;14,15}$ = 8,00 Hz), 7,80-7,99 (m, 4H,

4,5,6 e 7-H), 7,78 (s, 1H, 16-H), 7,75-7,71(d, 2H, 12 e 14-H, $^3J_{11,12;15,14}=8,00\text{Hz}$), 7,62-7,58 (m, 2H, 2' e 6'-H,), 7,35-7,39 (m, 3H, 3', 4', e 5'-H).

6.5.1.8 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(4-metoxi-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (117).

p.f.: 207,4-207,9°C EtOH/AcOEt (2:1).

p.f.: (*literatura*⁴¹)180-181°C.



Rendimento: 80% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3198 (ν NH), 1780 e 1742[ν N(C=O)₂], 1380 e 1160 (ν -SO₂ -), 1510 (ν C=N).

Análise Elementar.

Calculado(%): C60,68, H3,93, N9,65, S5,84.

Encontrado(%):C60,23, H3,71, N9,65, S5,84.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

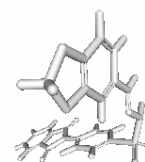
11,44 (s, 1H, 17-H), 8,05-8,01 (d, 2H, 11 e 15-H, $^3J_{11,12;15,14}=8,00$ Hz), 7,99-7,93 (m, 4H, 4, 5, 6 e 7-H), 7,90 (s, 1H, 16-H), 7,75-7,71(d, 2H, 12 e 14-H, $^3J_{12,11;14,15}=8,00\text{Hz}$), 7,56-7,52 (d, 2H, 2' e 6'-H, $^3J_{2',3';6',5'}=8,00\text{Hz}$), 6,97-6,93 (d, 2H, 3'e 5'-H, $^3J_{3',2';5',6''}=8,00\text{Hz}$), 3,77 (s, 3H, 4'-OCH₃).

RMN-¹³C, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

166,96 (C1 eC3), 161,26 (C4'), 148,19 (C16), 138,30 (C10), 136,17(C13), 135,38(C5 e C6), 131,65 (C8 e C9), 128,92(C1'), 128,33(C2', C6'), 127,92 (C11 eC15), 126,44 (C4, e C7), 124,03 (C12 e C14), 114,67 (C3'e C5'), 55,64 (C4'-OMe).

6.5.1.9 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(3',4'-dioximetileno-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**118**).

p.f.: 200°C, decomposição. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 80% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3232 (ν NH), 1790 e 1742 [ν N(C=O)₂], 1390 e 1170 (ν -SO₂ -), 152 (ν C=N), (ν Ar-O-CH₂-O-Ar).

Análise Elementar:

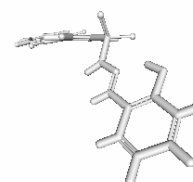
Calculado(%): C58.79, H3.36, N9.35, S7.13.

Encontrado(%):

RMN⁻¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶) 11,49 (s, 1H, 17-H), 8,06-8,02 (d, 2H, 11 e 15-H, ³*J*_{11,12;15,14}=8,00 Hz), 7,98-7,7,85 (m, 4H, 4, 5, 6 e 7-H), 7,87 (s, 1H, 16-H), 7,76-7,72(d, 2H, 12 e 14-H, ³*J*_{12,11;14,15}=8.00Hz), 7,15 (s, 1H, 6'-H), 7,01 (d, 1H, 2'-H, ³*J*_{2',3''}=8.00Hz), 7,01 (d, 1H, 3'-H, ³*J*_{3',2'}=8.00Hz), 6,06 (s,2H, 3'e 4'Ar-O-CH₂-O-Ar).

6.5.1.10 As Propriedades moleculares da 4-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-N'-[(1E)-(2-hidroxi-fenil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**119**).

p.f.: 226-227°C. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 80% a partir de 200 mg de SH.

Análise Elementar.

Calculado(%):C59.85, H3.58, N9.97, S7.60.

Encontrado(%):C57,87, H3,52, N9,71, S7,55.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

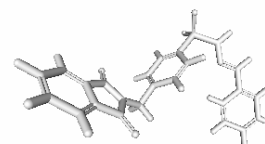
11,63 (s, sl, 1H, 17-H), 10,20 (s, 1H, 2'-OH), 8,22 (s, 1H, 16-H), 8,04-8,00 (d, 2H, 11 e 15-H, ³*J*_{11,12;15,14}=8,00 Hz), 7,96-7,88 (m, 4H, 4, 5, 6 e 7-H), 7,76-7,72 (d, 2H, 12 e 14-H, ³*J*_{12,11;14,15}=8,00Hz), 7,53-7,49 (d, 1H, 6'-H, ³*J*_{6',5'}=8,00Hz), 7,27-7,15 (t, 1H, 4'-H, ³*J*_{4',5} e _{4'5}=8,00Hz), 6,87-6,79 (m, 2H, 3'e 5'-H).

RMN-¹³C, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

166,96 (C1 e C3), 156,566 (C2'), 146,31 (C16), 137,70 (C10), 136,05 (C13), 134,94 (C5 e C6), 131,60 (C8 e C9), 131,47,92 (C6'), 127,91 (C11, C15), 127,60 (C4'), 127,30 (C4, e C7), 123,64 (C12 e C14), 119,49 (C1'), 119,14 (C5'), 116,26 (C3').

6.5.1.11 *As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzossulfonil-hidrazida, (120).*

p.f.:162,2-162,8 °C. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3202(ν NH), 1774 e 1706[ν N(C=O)₂], 1398 e 1162 (ν -SO₂ -), 1602 (ν C=N).

Análise Elementar:

Calculado(%):C63,00, H4,04, N10,02, S7,64.

Encontrado(%):C63,08, H4,16, N10,10, S7,16.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

11,55 (s, sl 1H, 18-H), 7,90-7,36 (m, 13H, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 15, 2', 3', 4', 5', 6', 17-H), 4,84(s, 2H, 16-H).

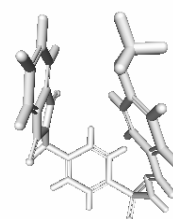
RMN-¹³C, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

167,70 (C1 e C3), 147,25(C17), 141,88 (C13), 138,03 (C10), 134,60 (C5 e C6), 133,56 (C1'), 131,59 (C8 e C9), 130,13 (C4'), 128,78 (C2', C6'), 127,96 (C3' e C5'), 127,53 (C11 e C15), 126,19 (C4 e C7), 123,30 (C12 e C14), 119,14 (C5'), 116,26 (C3'), C16 sob os sinais do DMSO.

6.5.1.12 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil]-N'-[(1E)-4-metoxi-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**121**).

p.f.:200°C. EtOH/AcOEt (2:1)

Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.



IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3218 (ν NH), 1770 e 1710 [ν N(C=O)₂], 1394 e 1164 (ν -SO₂ -), 1608 (ν C=N), 1108 (ν Ar-OCH₃).

Análise Elementar:

Calculado(%):C63,00, H4,04, N10,02, S7,64.

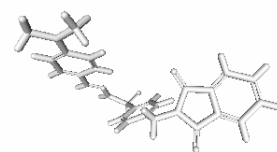
Encontrado(%):C63,08, H4,16, N10,10, S7,16.

RMN-¹H, δ(ppm, DMSO-*d*⁶): 11,44 (s, 1H, 18-H), 7,46-7,87 (m, 11H, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 15, 2', 6' e 17-H), 6,95-6,91(d, 2H, 3' e 5' ³*J*_{3',2';5',6'}=8,00 Hz), 4,84 (s, 2H, H-16), 3,76 (s, 3H, 4'-OMe).

RMN-¹³C, δ(ppm, DMSO-*d*⁶): 167,80 (C1 e C3), 160,90 (C'4), 147,45 (C17), 141,84 (C13), 138,18 (C10), 134,70 (C5 e C7), 131,64 (C8 e C9), 130,13 (C4'), 128,52 (C2', C6'), 128,00 (C1'), 127,96 (C3' e C5'), 127,66 (C11 e C15), 126,24 (C4 e C7), 123,41 (C12 e C14), 114,36 (C3', C5'), sob os sinais do DMSO.

6.5.1.13 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il) metil]N'-[(1E)-4-N,N'-di-metil-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**122**).

p.f.: 198°C. EtOH/AcOEt (2:1)



Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr)ν_{Máx}: 3220 (ν NH), 1772 e 1710[ν N(C=O)₂], 1398 e 1168 (ν -SO₂ -), 1602 (ν C=N).

Análise Elementar: Calculado(%):C62.32, H4.79, N12.11, S6.93%.
Encontrado(%):C62,00, H4,66, N11,71, S6,52.

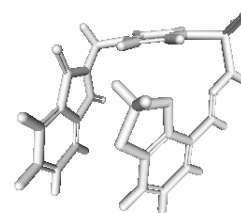
RMN-¹H, δ(ppm, CDCl₃): 7,94-7,90 (d, 2H, 11 e 15-H, ³*J*_{11,12;15,14}=8,00Hz), 7,80-7,99 (m, 4H, 4,5,6 e 7-H), 7,78 (s, 1H, 18-H), 7,57-7,53 (d, 2H, 12 e 14-H, ³*J*_{12,11;14,15}), 7,46-7,42 (2H, 2' e 6'-H, ³*J*_{2',3';6,5'}), 7,40 (s, 1H, 17-H),

6,64-6,60 (d, 2H, 3'H e 5'H $^3J_{3',2';5',6}=8,00$ Hz), 4,87 (s, 2H, 16-H), 2,99 (s, 6H, 4'-N,N-di-Me):

6.5.1.14 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil] N'-[(1E)-3',4'-dioximetileno-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**123**).

p.f.: 180°C. EtOH/AcOEt (2:1)

Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.



IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3212 (ν NH), 1770 e 1712 [ν N(C=O)₂], 1396 e 1164 (ν -SO₂ -), 1510 (ν C=N), 1264 (ν Ar-OCH₂-OAr).

Análise Elementar:

Calculado(%): C59,60, H3,70, N9,07, S6,92.

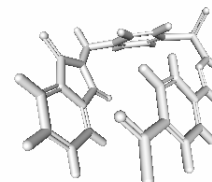
Encontrado(%): C58,75, H3,64, N8,58, S6,88.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 11,10(s, 1H, 18-H), 7,52-7,88 (m, 9H, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 17-H), 7,10 (s, 1H, 6'-H), 7,05-7,00 (d, 1H, 3'-H, $^3J_{3',2'}=8,00$ Hz), 6,92-6,88 (d, 1H, 2'-H, $^3J_{2',3'}=8,00$ Hz), 6,05 (s, 2H, 3',4'-Ar-O-CH₂-O-Ar), 4,85 (s, 2H, 16-H).

RMN-¹³C, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 167,72 (C1 e C3), 149,01 (C4'), 147,88 (C5'), 147,15 (C17), 141,85 (C13), 137,99 (C10), 134,62 (C6 e C7), 131,60 (C8 e C9), 127,94 (C1'), 127,60 (C11 e C15), 126,20 (C4 e C7), 123,33 (C12 e C14), 123,11 (C2), 108,40 (C6'), 104,89 (C3'), 101,45 (C3',4'-Ar-O-CH₂-O-Ar).

6.5.1.15 As Propriedades moleculares 4-[(1,3-dioxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)metil] N'-[(1E)-4-nitro-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**124**).

p.f.: 220°C. EtOH/AcOEt (2:1)



Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3148 (ν NH), 1768 e 1700 [ν N(C=O)₂], 1394 e 1116 (ν -SO₂ -), 1594 (ν C=N).

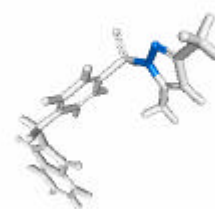
Análise Elementar:

Calculado(%):= C56.89, H3.47, N12.06 S6.90.

Encontrado(%):

6.5.1.16 As Propriedades moleculares da 2-{4-[(3',5'-dimetil-1H-pirazol-1-il)-sulfonil]-benzil}-1H-isoindol-1,3(2H)-dione, (**125**).

p.f.: 188°C. EtOH/AcOEt (3:1)



Rendimento: 85% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 1768 e 1718 [ν N(C=O)₂], 1396 e 1080 (ν -SO₂ -), 1580 (ν C=N).

Análise Elementar:

Calculado(%):= C60,75, H4,33, N10,63, S8,11.

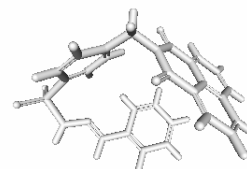
Encontrado(%): C61,23, H4,17, N10,69, S8,28.

RMN-¹H, δ (ppm, CDCl_3): 7,92-7,88 (d, 2H, 11 e 15-H, $^3J_{11,12;15,14}=8,00$ Hz), 7,87-7,72 (m, 4H, 4, 5, 6 e 7-H), 7,56-7,52 (d, 2H, 12 e 14-H, $^3J_{12,11;14,15}=8,00$ Hz), 5,88 (s, 1H, 4'-C=CH-), 4,88 (s, 2H, 16-H), 2,46 (s, 3H, 3'-CH₃), 2,18 (s, 3H, 5'-CH₃).

RMN-¹³C, δ (ppm, CDCl_3): 168,22 (C1 e C3), 154,17 (C3'), 144,68 (C4'), 143,15 (C13), 138,13 (C10), 134,84 (C4 e C5), 132,24 (C8 e C9), 129,67 (C4 e C7), 128,47 (C11 e C15), 124,01 (C12 e C14), 111,47 (C5'), 41,36 (C16), 14,31 (C3'-CH₃), 13,56 (C5'-CH₃).

6.5.1.17. *As Propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (126).*

p.f.: 215°C. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 50% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3206 (ν NH), 1698 e 1656 [ν N(C=O)₂], 1334 e 1168 (ν -SO₂ -), 1512 (ν C=N), (ν Ar-OCH₃).

Análise Elementar:

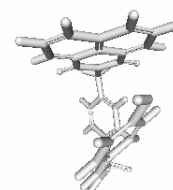
Calculado(%): C66,51, H4,08, N8,95, S6,83.

Encontrado(%): C65,16, H4,01, N8,45, S6,92.

RMN-¹H, δ (ppm, $\text{DMSO}-d_6$): 11,52 (s, 1H, 22-H), 8,46-8,51 (m, 4H, 4, 9, 6 e 7-H), 7,91-7,80 (m, 4H, 5 e 8, 15 e 19-H), 7,84 (s, 1H, 21-H), 7,58 (m, 4-H, 16 e 18, 2'e 6'-H), 7,38 (m, 3H, 3-,4'e 5'-H), 5,30 (s, 2H, 20-H).

6.5.1.18 As Propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)-metil]-N'-[(1E)-4-hidroxi-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (127).

p.f.: 198°C. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 60% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3250 (ν Ar-OH). 3178 (ν NH), 1686. e 1646 (ν N(C=O)₂), 1334 e 1170 (ν -SO₂ -), 1516 (ν C=N).

Análise Elementar:

Calculado(%): C64,32, H3,94, N8,65, S6,60.

Encontrado(%): C63,48, H4,13, N8,28, S6,13.

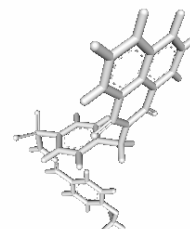
RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶):

11,20 (s, 1H, 22-H), 9,90 (s, 1H, 4'-OH), 8,21-8,46 (m, 4H, 4, 9 e 6, 7-H), 7,91-7,87 (d, 2H, 15 e 19-H, ³*J*_{15,16;19,18}=8,00 Hz), 7,83-7,72 (m, 2H, 5 e 8-H), 7,77 (s, 1H, 21-H), 7,58-7,54 (d, 2H, 16 e 18-H, ³*J*_{16,15;18,19}=8,00 Hz), 7,38-7,34 (d, 2H, 3' e 5'-H, ³*J*_{2',3';6',5'}=8,00 Hz), 7,49-7,44 (d, 2' e 6'-H, ³*J*_{3',2';5',6'}=8,00 Hz), 5,30 (s, 2H, 20-H).

5.1.19 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-4-metoxi-fenilmetileno] benzosulfonil-hidrazida, (**128**).

p.f.: 190°C. EtOH/AcOEt (2:1).

Rendimento: 50% a partir de 200 mg de SH.



IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3186 (ν NH), 1700 e 1658 [ν N(C=O)₂], 1332 e 1160 (ν -SO₂ -), 1514 (ν C=N).

Análise Elementar:

Calculado(%): C64,92, H4,24, N8,41, S6,42.

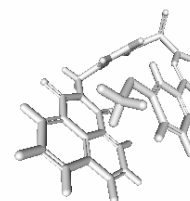
Encontrado(%):

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 11,30 (s, 1H, 22-H), 8,49-8,43 (m, 4H, 4, 9 e 6, 7-H), 7,89- 7,79 (m, 4H, 5, 8, 15 e 19-H), 7,81(s, 1H, 21-H), 7,60-7,56 (d, 2H, 16 e 18-H, ³*J*_{16,15;18,19}=8,00 Hz), 7,49-7,44 (d, 2H, 2'e 3'-H, ³*J*_{2',3';6',5'}=8,00 Hz), 6,92-6,88 (d, 2H, 5'e 3'-H, ³*J*_{3',2';5',6'}=8,00 Hz, 5,30 (s, 2H, 20-H), 3,76 (s, 3H, 4'-OMe).

6.5.1.20 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-3-metoxi-fenilmetileno]benzosulfonil-hidrazida, (**129**).

p.f.: 220°C. EtOH/AcOEt (2:1).

Rendimento: 60% a partir de 200 mg de SH.



$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3164 (ν NH), 1696 e 1650 (ν N(C=O)₂), 1328 e 1168 (ν SO₂), 1486 (ν C=N).

Análise Elementar.

Calculado(%): C64,92, H4,24, N8,41, S6,42.

Encontrado(%): C65,17, H4,09, N8,52, S4,45.

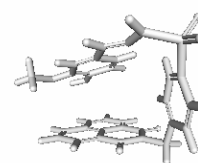
$RMN\text{-}^1H$, δ (ppm, DMSO- d_6):

11,51 (s, 1H, 22-H), 8,49-8,43 (m, 4H, 4, 9 e 6, 7-H), 7,91-7,87 (d, 2H, 15 e 19-H, $^3J_{16,15;18,19}=8,00$ Hz), 7,85-7,83 (m, 2H, 5 e 8-H), 7,79 (s, 1H, 21-H), 7,60-7,56 (d, 2H, 16 e 18-H, $^3J_{16,15;18,19}=8,00$ Hz), 7,26 (t, 1H, 5'-H), 7,11 (s, 1H, 2'-H), 7,08-7,04 (d, 1H, 6'-H, $^3J_{6',5'}=8,00$ Hz), 6,94-6,90 (d, 2H, 4', 5'-H, $^3J_{4',5'}=8,00$ Hz), 5,30 (s, 2H, 20-H). 3,71 (s, 3H, 3'-OMe).

6.5.1.21 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-3-metoxi-4-hidroxi-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**130**).

$p.f.$: 230°C. EtOH/AcOEt (2:1).

Rendimento: 60% a partir de 200 mg de SH.



$IV(KBr)\nu_{\text{Máx}}$: 3484 (ν Ar-OH), 3230 (ν NH), 1696 e 1652 (ν N(C=O)₂), 1326 e 1198 (ν SO₂), 1486 (ν C=N).

Análise Elementar.

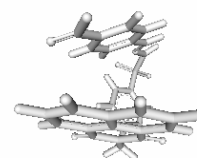
Calculado(%): C62,90, H4,11, N8,15, S6,22.

Encontrado(%): C62,03, H4,11, N7,97, S6,90.

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 11,19 (s, 1H, 22-H), 9,49 (s, 1H, 4'-OH), 8,51-8,45 (m, 4H, 4, 9 e 6, 7-H), 7,91-7,87(d, 2H, 15 e 19-H, ³*J*_{15,16;19,18}=8,00 Hz), 7,83 (s, 1H, 21-H) 7,78-7,77 (m, 2H, 5 e 8-H), 7,59-7,55 (d, 2H, 16 e 18-H, ³*J*_{16,15;18,19}=8,00 Hz), 7,06 (s, 1H, 2'-H), 6,96-6,92 (d, 1H, 6'-H, ³*J*_{6',5}=8,00 Hz), 6,75-6,71 (d, 1H, 5'-H, ³*J*_{5',6}=8,00 Hz), 5,30 (s, 2H, 20-H), 3,72 (s, 3H, 3'-OCH₃).

6.5.1.22 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3Hil)metil]-N'-[(1E)-4-nitro-fenilmetileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**131**).

p.f.: 229°C. EtOH/AcOEt (2:1).



Rendimento: 60% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 3230(ν NH), 1700 e 1660 (ν N(C=O)₂), 1334 e 1170 (ν SO₂), 1438 (ν C=N).

Análise Elementar:

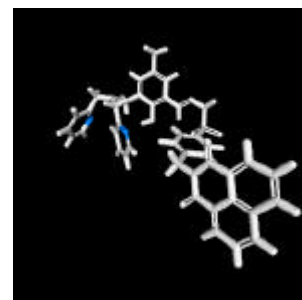
Calculado(%): C62,90, H4,11, N8,15, S6,22.

Encontrado(%):

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 12,00 (s, 1H, 22-H), 8,48-8,42 (m, 4H, 4 e 9, 6 e 7-H), 8,18-8,14(d, 2H, 3' e 5'-H, ³*J*_{3',2';5'6'}=8,00 Hz), 7,98 (s, 1H, 21-H) 7,88-7,79 (m, 6H, 5 e 8, 15 e 19, 2' e 6'-H), 7,59-7,55 (d, 2H, 16 e 18-H, ³*J*_{2',3';6',5'}=8,00 Hz), 5,30 (s, 2H, 20-H).

6.5.1.23 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N'-[(1E)-(3'-{[bis(piridin-2''-il-metil)-amino]metil}-2'-hidroxi, 5'-metil)metileno]-benzosulfonil-hidrazida, (**132**).

p.f.: 229°C. EtOH/AcOEt/DMSO (2:1:1).



Rendimento: 60% a partir de 200 mg de SH.

IV(KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 1696 e 1648 (ν N(C=O)₂), 1332 e 1166 (ν SO₂), 1486 (ν C=N).

Análise Elementar:

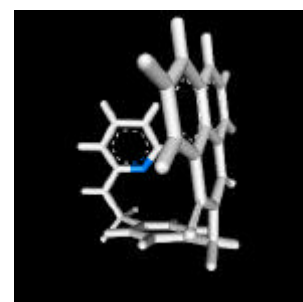
Calculado(%): C67,23, H4,63, N12,06, S4,60.

Encontrado(%):

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 11,35 (s, 1H, 22-H), 8,49-8,40 (m, 6H, 4 e 9, 6 e 7, 6''-H), 8,21 (s, 1H, 21-H), 7,86-7,82 (d, 2H, 15 e 19-H, ³*J*_{15,16;19,18}=8,00 Hz), 7,78-7,69 (m, 4H, 4'', 5 e 8-H), 7,60-7,56 (d, 2H, 16 e 18-H, ³*J*_{16,15;18,19}=8,00 Hz), 7,30-7,21 (4H, 2'' e 5''-H), 7,16 (s 1H, 6'-H), 8,97 (s, 1H, 4'-H), 5,27 (s, 2H, 20-H), 3,73 (s, 4H, 2''-CH₂-), 2,10 (s, 3H, 5'-CH₃)

6.5.1.23 As propriedades moleculares da 4-[(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)metil]-N-piridin-2-il-benzo-sulfonamida (**99**)^{*}.

p.f.: °C. 253.



Rendimento: 70% a partir de 200 mg de cloreto de sulfonila.

IV(,KBr) $\nu_{\text{Máx}}$: 1696 e 1648 (ν N(C=O)₂), 1332 e 1166 (ν SO₂), 1486 (ν C=N).

RMN-¹H, δ (ppm, DMSO-*d*⁶): 8,50 (m, 4H, 4 e 9, 6 e 7-H), 7,92 (m, 5H, 5, 8, NH e 2-H-piridina), 7,51-7,33 (dd, 4H, 15, 19 e 16,18-H), 5,25 (s, 2H, 20-H).

* Este composto foi produzido pela reação do cloreto de sulfonila (1x mol), da 2-aminopiridina (1x mol) e da trietilamina (1x mol) em metanol a temperatura ambiente. Evapora-se o solvente e verte-se o conteúdo do balão sobre uma solução de HCl 5%. Coleta-se o sólido resultante por filtração a vácuo, lavando o sólido com a mesma solução. Procede-se a lavagem do sólido com NaHCO₃ 5% e finaliza-se com água.

7 OS PROCEDIMENTOS EMPREGADOS PARA A AVALIAÇÃO BIOLÓGICAS CONTIDAS NESTA PESQUISA

Os procedimentos utilizados na avaliação das capacidades inibitórias das sulfonil-hidrazonas e na lipoperoxidação consistem de protocolos obtidos na literatura com adaptações.

7.1 A AVALIAÇÃO DA LIPOPEROXIDAÇÃO

O nível de lipoperoxidação indicado pela formação de malonilaldeído e outras substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi analisado espectrofotometricamente a 535 nm. O teste avalia o dano celular e foi baseado no trabalho descrito pelos pesquisadores OHKAWA *et al*⁴⁷ em 1979 e BIRD & DRAPER⁴⁸ em 1984.

Os lipossomas de fígado de rato serão tratados com o radical ascorbila (FeSO_4 + ascorbato), após pré-incubação à 37°C por 1 hora.

7.2 A ATIVIDADE DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE

Este método baseia-se no monitoramento espectrofotométrico da oxidação da mioglobina pelo NO, resultando num aumento progressivo da oxidação a 405 nm. A mioglobina adquirida comercialmente é reduzida pelo tratamento prévio com ditionito. A formação do NO é iniciada pela adição de 10 μL do homogenato de cerebelo (anteriormente preparado), onde existe uma maior quantidade de oxi-hemoglobina. A taxa de mudança em A_{405} é avaliada continuamente em intervalos de 30 segundos por 10 minutos. A taxa de oxidação in D.O. por minuto é convertida em nmol NO por minuto utilizando um fator de conversão previamente estabelecido⁴⁸.

7.3 A ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE

O sobrenadante, do homogenato de pulmão, foi posto num meio de reação contendo 50 mM de tampão fosfato (NaH_2PO_4) a pH 6,0 a 25 °C, com o-dianisidina-2 HCl (0,167 mg/mL) e H_2O_2 (0,005 %). A atividade da enzima foi determinada pela inclinação da curva de absorção à 450 nm.

8 CONDIÇÕES DAS CINÉTICAS DE HIDRÓLISE

Pesou-se os compostos em quantidades necessárias para se preparar uma solução, em DMSO, com concentração de um milimolar.

A água foi tamponada com Bistris (bis[2-hidróxietil]imino-tris[hidróximetil]metano) e o pH foi corrigido com HCl 0,1M até a solução atingir pH 7.

Adicionou-se a 50 μL da solução dos compostos sobre 2 mL do tampão e iniciou-se o experimento.

As cinéticas foram interrompidas quando não se evidenciava a variação da absorvância. Os valores das constantes foram geradas pelo programa “chem station” que controla o aparelho HP 8453.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hashimoto Y. *Structural Development of Biological Response Modifiers Based on Talidomida*. **Bioorg. & Med. Chem.**, 2002, v. 10, p. 461-479.
2. Ibidem
3. Miyachi, H., A., et al. *Novel Biological Response Modifiers: Phthalimides with Necrosis Factor- α Production-Regulating Activity*. **J. Med. Chem** , 1997, v. 40, p. 2858-2865.
4. Komoda, M., et al. Y. *Specific Inhibitor of Puromycin-Sensitive Aminopetidase With a Homophthalimide Skeleton: Identification of the Target Molecule and a Structure-Activity Relationship Study*. **Bioorg. & Med. Chem.**, 2001, v. 9, p. 121-131.
5. Norman, M., H., Minick, D., J., Rigdon, G., C. *Effect of Kinking Bridge Modifications on the Antipsychotic Profile of Some Phthalimide and Isoindolinone Derivatives*. **J. Med. Chem.**, 1996, v. 39, p. 149-157.
6. Filho, V., C., et al. *Further Studies on analgesic Activity of Ciclic Imides*. **II Farmaco.**, 1998, v. 53, p. 55-57.
7. Andricopulo., A., et al. *A. Analgesic Activity of Cyclic Imides: 1,8-Naphthalimide and 1,4,5,8-naphthalimide derivative*. **II Farmaco**, 2000, v. 55, p. 319-32.
8. Kalgutkar, A. S.; Crews, B. C.; Marnett, L. *Design, Synthesis, and Biochemical Evaluation of N-Substituted Maleimides as Inhibitors of Prostaglandin Endoperoxide Synthases*. **J. Med. Chem.**, 1996, v. 39, p. 1692-1703.
9. Picot, D., Loll, P., J., Garavito., M., R. *The X-ray Cristal Structure of The Membrane Protein Prostaglandin H₂ Synthase-1*. **Nature**, 1994, v. 367, p. 243-249.
10. Noguchi, T., Shimazawa, R., Nagasawa, K., Hashimoto, Y. *Thalidomide and Its Analogs as Cyclooxygenase Inhibitors*. **Bioorg. & Med. Chem. Let.**, Artigo submetido 2002.
11. Vamecq, J., et al. *Synthesis and Anticonvulsant and Neurotoxic Properties of Substituted N-Phenyl Derivatives of the Phthalimide Pharmacophore*. **J. Med. Chem.**, 2000, v. 43, p. 1311-1319.

12. Bender, W., et al. *Probing The Size of a Hydrophobic Binding Pocket Within The Allosteric Site of Muscarinic Acetylcholine M₂-Receptor*. **Live Science**, 2000, v. 66, n. 18, p. 1675-1682.
13. Braña, M., F., Sanz, A., M. *Syntheses and Cytostatic Activity of Benz(de)isoquinoli-1,3-diones. Structure-activity relationships*. **Eur. J. Med. Chem-Chimica terapeutica**, 1981, v. 16, n. 3, 207-212.
14. Braña, M., F., et al. *Chromophore-Modified Bis-Naphthalimides: Syntheses and Antitumor Activity of Bis-Dibenz[de,h]isoquinoline-1,3-diones*. **J. Med. Chem.**, 1997, v. 40, p. 449-454.
15. Miller, K., E., Grace, J., M., Macdonald, T., L. *The Stabilization of DNA Topoisomerase II Cleavable Complex By Mitonafide Analogs*. **Bioorg & Medicinal Chemistry Letters**, 1994, v. 4, p. 1646-1648.
16. Lima, L., M., et al. *Syntheses and Antinociceptive Profile of Novel Acidic Sulphonilhydrazone Derivatives From Natural Safrole*. **Pharm. Pharmacol. Commun.**, 1999, v.5, p. 673-678,.
17. Lima, P., C., et al. *Synthesis and analgesic activity of novel N-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole*. **Eur. J. Med. Chem.** , 2000, v. 35, p. 187-203.
18. Agrawal, K., C., Sartorelli, A., C. *Relationship Between Structure and Antineoplastic Activity of Arylsulfonyhydrazones of 2 -Formylpyridine N-Oxide*. **J. Med. Chem.**, 1978, v. 21, n. 2, p. 218-221.
19. Sartorelli, A. C., Krishnamurthy, S., Lucille, A., C. *Relationship Between Structure and Antineoplastic Activity of Arylsulfonyhydrazones of 4-Pyridinecarboxaldehyde*. **J. Med. Chem.**, 1985, v. 28, p. 149-152.
20. Bhatt, D. J. ; Kamdar, G. C. ; Parikh, A. R. *Studies on Sulphonylhydrazones: Activity of Arylsulphonyl-(4-substituted)-aceto/propionophenonehydrazones*. **Journal of Indian Chemical Society**, 1984, v. 788-789.
21. Filho, V., C., et al. *Aspectos Químicos e Potencial Terapêutico de Imidas Cíclicas: Uma Revisão da Literatura*. **Química Nova**, 2003, v. 26, artigo submetido.
22. Reddy, P., et al. *Lewis Acid and Hexamethyldisilazane-Promoted Efficient Syntheses of N-Alkyl and N-Arylimide Derivatives*. **J. Org. Chem.**, 1997, v. 62, p. 2652-2654.

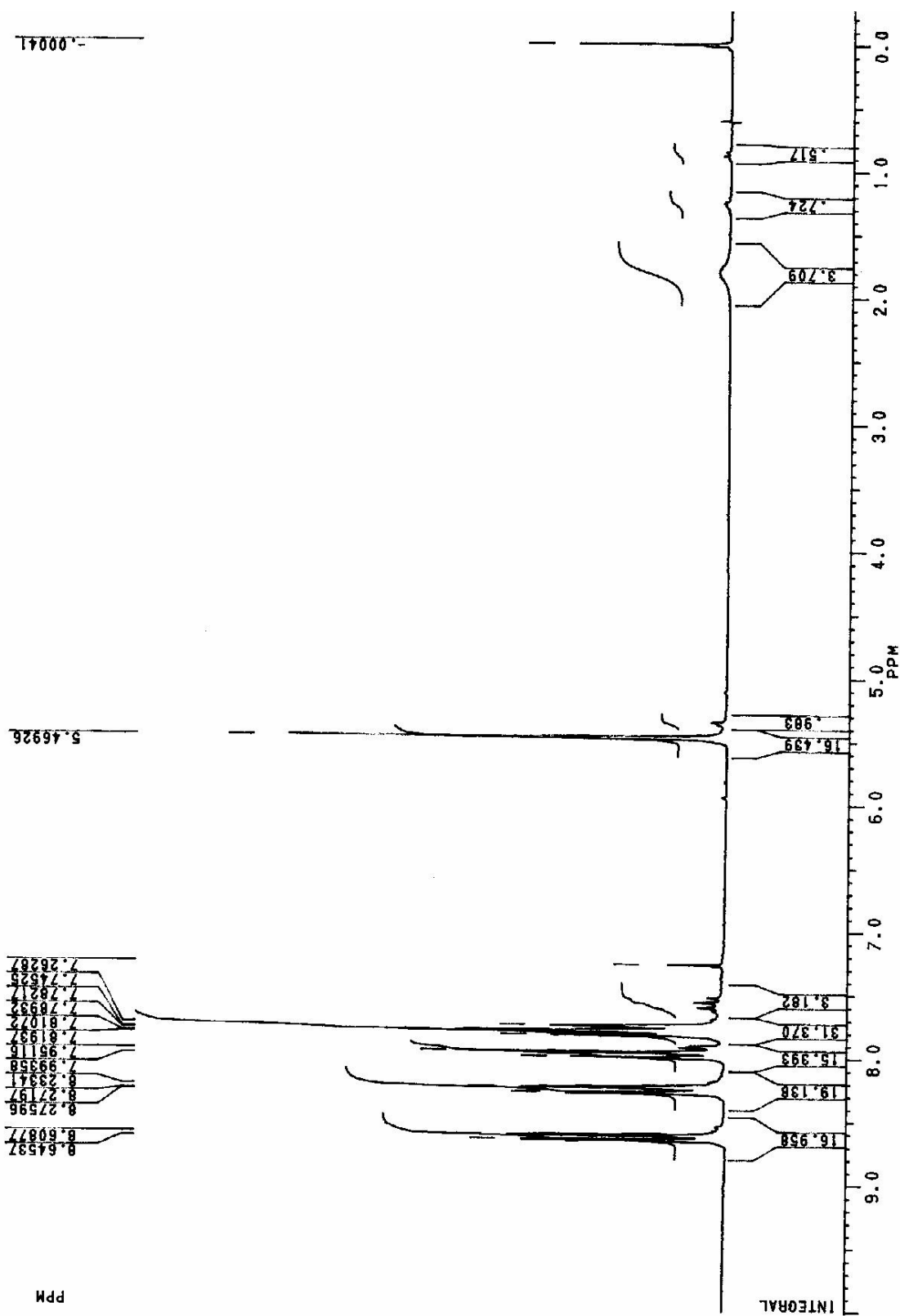
23. Smith, D., et al. 3-anilino-4-arylmaleimides: *Potent and Selective Inhibitors of Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3)*. **Bioor. & Med. Chem. Lett.**, artigo submetido, 2000.
24. Mundy, B., P., Ellerd, M., G. **Name Reactions and Reagents in Organic Synthesis**. John Wiley & Sons, New York, 1988 p. 18.
25. Chandrasekhar, S., Reddy, V., M., Reddy, K., S., Ramarao, C. *Addition of Carbon Nucleophiles to Aldehyde Tosylhydrazones of Aromatic and Heteroaromatic-compounds: Total Syntheses of Piperine and its Analogs*. **Tet. Letters**, 2000, v. 41, p. 2667-2670.
26. Carey, F., Sundberg, R., J. **Advanced Organic Chemistry**, third edition, New York, Plenum Press, 1993. v. 2, p. 265-266.
27. Karabatsos, G., J., Graham, J., D., Vane, F., M., *Syn-anti isomer determination of 2,4-dinitrofenilhidrazones and semicarbazones by H.m.r.* **J. Am. Chem. Soc.** 1962, v. 84, 753-755.
28. Karabatsos, G., J., Shapiro, B., L., Vane, F., M., Fleming, J., S., Ratka, J., S., *Structural studies by N.M.R. II. Aldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazones*. **J. Am. Chem. Soc.** 1963, v.85, 2784-2788.
29. KOSHLAND, D.E.Jr. **Science**. 1992,v.258, 1861-1865.
30. FRICKER, S.P. Ruthenium, *Nitric Oxide and Disease. A novel Inorganic Chemistry Approach to Drug Design*. **Platinum Metals Rev.** 1995, v. 39, n. 4, p. 150-159.
31. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals In Biology And Medicine**, 3rd edition. New York, Oxford University Press, 2000.
32. AOKI, .E.; TALEUCHI, I.K.; SHOJI, S. *Nitric Oxide: An Attractive Signaling Molecule*. **Acta Histochem Cytochem.** 1995, v.28, n. 2, p. 97-106.
33. MINISCI, F. **Free Radicals in Biology and Environment**, Kluwer Academic Publisher; 1997, p.1-27.
34. RADI, R.; PELUFFO, G.; ALVAREZ, N.; NAVILIAT, M.; CAYOTA, A. *Unraveling peroxynitrite formation in biological Systems*. **Free Rad. & Med.** 2001, v.30, p.5, p. 463-488.

35. Referência 29 (ibidem)
36. BECKMAN, J.S.; BECKMAN, T.W.; CHEN J. *Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide.* **Proc. Natl. Acad. Sci.** 1990, v.87, p.1620-1624.
37. SARAN, M.; MICHEL, C.; BORS, W. *Reaction of NO with $O_2^{\cdot-}$, implications for the action of endothelium-derived relaxing factor (EDRF).* **Free Rad. Res. Commun.**, 1990, v.10, p.221-226.
38. STANBRO, W.D. *Modeling the interaction of peroxynitrite with low-density lipoproteins. I: plasma levels of peroxynitrite.* **J. Theor. Biol.** 2000, v.205, p. 457-464.
39. KLOTZ, L.O.; SCHROEDER, P.; SIES, H. *Peroxynitrite signaling: receptor tyrosine kinases and activation of stress-responsive pathways.* **Free Radical Biology & Medicine.**, 2002, v. 33, n. 6, p. 737-743.
40. KETTLE AJ, WINTERBOURN CC *A Kinetic Analysis of the Catalase Activity of Myeloperoxidase.* **Biochemistry**, 2001, v.40, p. 10204-10212.
41. Nunes, R.J.; **The Chemistry and Biological Activity of Cyclic Imidobenzenesulphonyl Derivatives.** 1986. PhD Thesis - Hatfield Polytechnic, , Inglaterra. a) Literatura citada neste trabalho.
42. Huntress, E.,H.; Carten, F., H. *Identification of Organic Coumpounds. I. Chlorosulfonic Acid as a Reagent for the Identification of Aryl Halides.* **J. Chem. Soc.**, 1940, v. 62, p. 51.
43. Pavia, D., L. Lampman, G., M., Kriz, G., S. **Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chemistry. Second edition.** Sauders Golden Sunburst Series, a Harcourt Brace College Publishers, Orlando, Florida. 1996, p. 81.
44. Willis C., Wills, M. Oxford Chemistry Primers, **Organic Synthesis.** Oxford University Press Inc., New York. 1997, v. 31,p.50.
45. OHKAWA, H.; OSHISHI,N.; YAGI, K. *Assay for lipid peroxides in animal-tissues by thiobarbituric acid reaction.* **Anal Biochem.**, 1979, v. 2, n. 95, p. 351-358.
46. BIRD, R.P.; DRAPER, A.H. *Comparative studies on differents methods of malondyaldehyde determination.* **Meth. Enzymol.** , 1984,.v.105, p. 295-305.

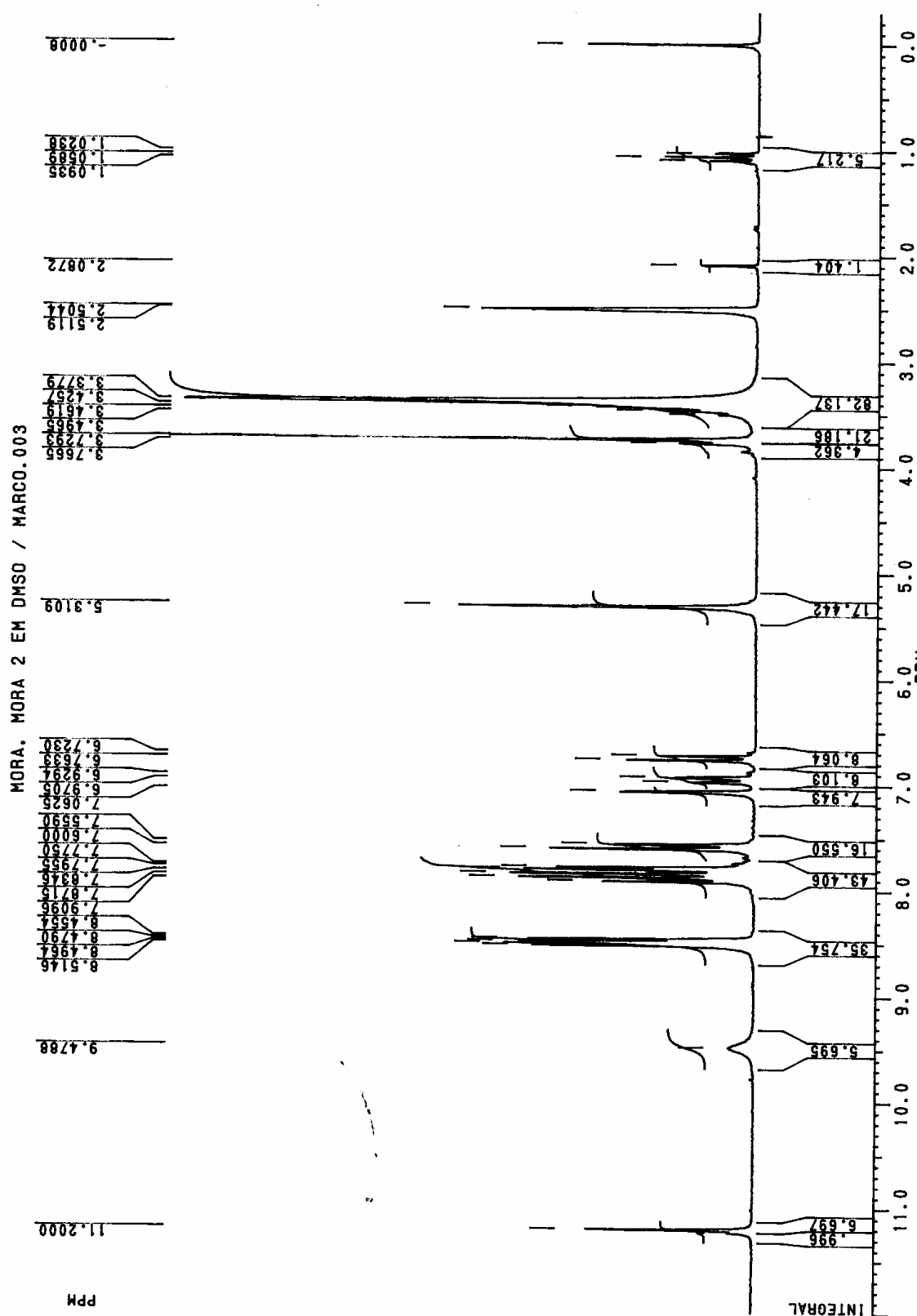
47. GROSS, S.S. *Microtiter plate assay for determining kinetics of nitric oxide synthesis. **Methods in Enzymology***, 1996, v. 268, p.159-68.

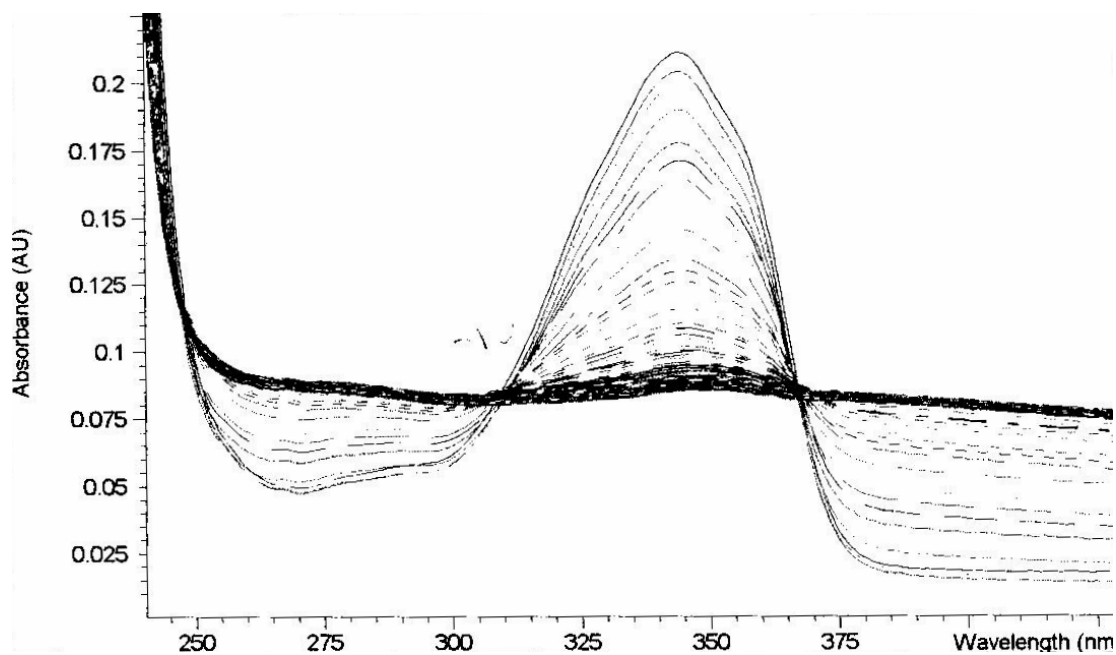
10 ANEXOS

CRISTIANO MORA, NBZNSO2CL EM CDCL3 / MAID.185

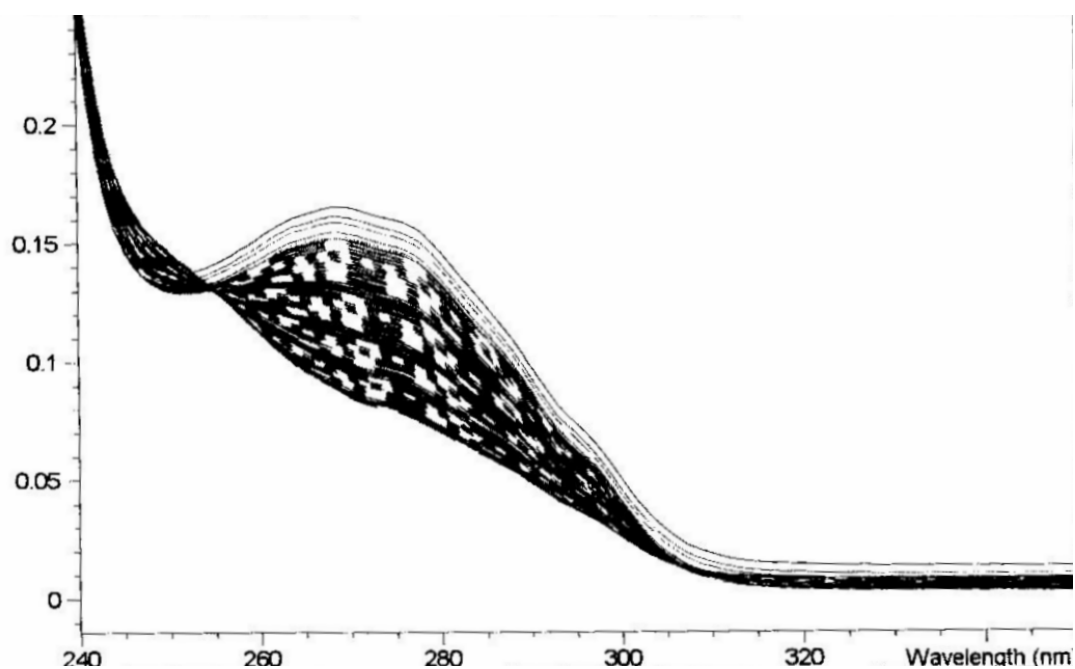


Espectro1. Espectro de RMN-¹H do composto NBZNSO₂Cl.

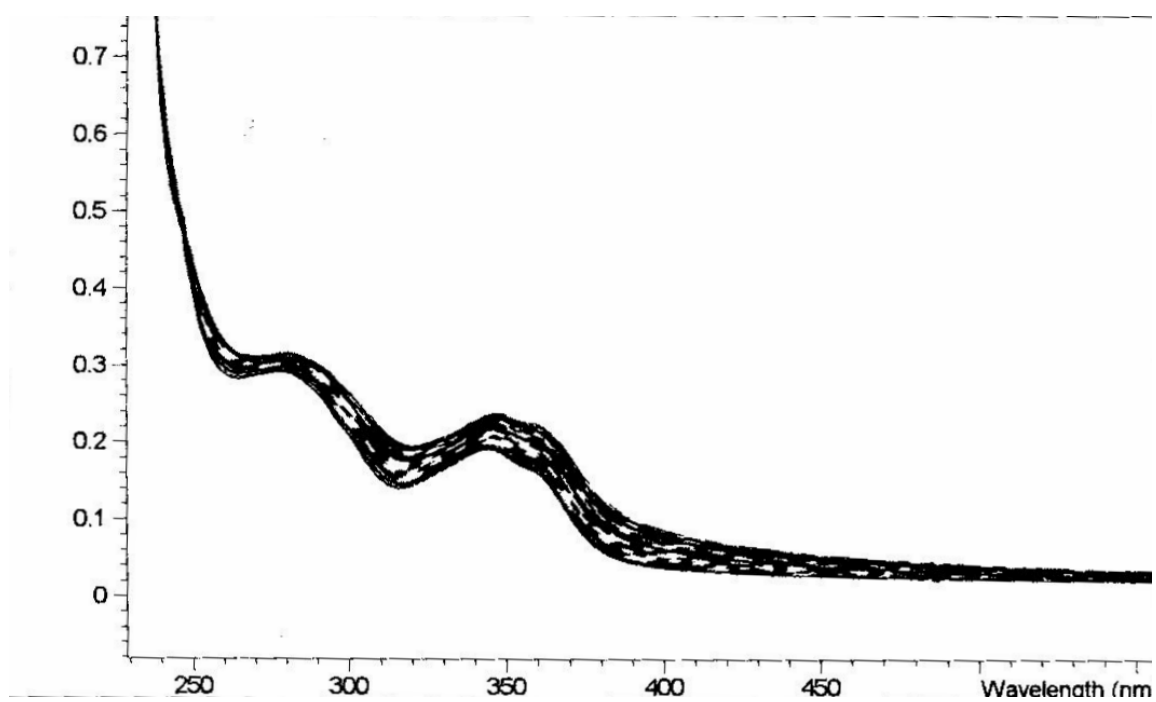
Espectro3. Espectro de RMN-¹H do composto NBzNSH3-OH-3-OMe.



Espectro 3. Espectros da cinética de hidrólise da NBzN.



Espectro 3. Espectros da cinética de hidrólise da NBzSuSHONA.



Espectro 3. Espectros da cinética de hidrólise da NBzNSHONA.